

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**RELATÓRIO FINAL**

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE CUBIU  
(*SOLANUM SESSILIFLORUM* DUNAL) E DE SUAS FRAÇÕES – UM ENSAIO  
*IN VITRO***

**PESQUISADOR: Diego Rocha de Lucena Herrera Mascato**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Rosany Piccolotto Carvalho**

**MANAUS**

**Janeiro– 2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA**  
**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE CUBIU**  
**(*SOLANUM SESSILIFLORUM* DUNAL) E DE SUAS FRAÇÕES – UM ENSAIO**  
***IN VITRO***

**PESQUISADOR: Diego Rocha de Lucena Herrera Mascato**

**Co-orientador: Prof<sup>ª</sup> Msc. Denise Moraes**

**Colaborador: Michelle Miranda Passarinho**

Projeto apresentado como requisito parcial ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC, sob orientação da Profa. Dr.<sup>a</sup> Rosany Piccolotto Carvalho.

**MANAUS**

**Janeiro – 2013**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	-----	14
Figura 2	-----	24
Figura 3	-----	25
Figura 4	-----	25
Figura 5	-----	26
Figura 6	-----	27
Figura 7	-----	28
Figura 8	-----	28
Figura 9	-----	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química do cubiu ( <i>Solanum sessiliflorum</i> ) em 100 g de polpa integral -----	9
Tabela 2 - Composição vitamínica e mineral do cubiu ( <i>Solanum sessiliflorum</i> ) em 100g de polpa integral -----	10
Tabela 3 - Ensaio para o extrato hidroetanólico a 70% do fruto de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal -----	23
Tabela 4. Ensaio para o extrato aquoso do fruto de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal -----	26

## SUMÁRIO

1. Resumo -----	7
2. INTRODUÇÃO -----	8
3. OBJETIVOS -----	12
3.1 GERAL -----	12
3.2 ESPECÍFICOS -----	12
4. MATERIAL E MÉTODOS-----	13
4.1 MATÉRIA PRIMA-----	13
4.2 PREPARAÇÃO DA FARINHA DO CUBIU -----	13
4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DA FARINHA DO CUBIU-----	14
4.4 DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO-----	15
4.5 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE -----	15
4.5.1 MÉTODO DPPH -----	15
4.5.2 MÉTODO ABTS -----	16
4.5.3 ENSAIO SISTEMÁTICO DE ANÁLISE EM FITOQUÍMICA -----	16
4.5.4 PREPARO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO A 70% -----	16
4.5.5 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO -----	17
4.5.6 ENSAIOS PARA EXTRATO HIDROETANÓLICO -----	17
4.5.6.1 PESQUISA DE ALCALÓIDES -----	17
4.5.6.2 PESQUISA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS -----	17
4.5.6.3 PESQUISA DE FENÓIS -----	18
4.5.6.4 PESQUISA DE HETEROSÍDEOS FLAVÔNICOS -----	18
4.5.6.4.1 REAÇÃO DE TAUBOCK OU OXALO-BÓRICA -----	18
4.5.6.4.2 REAÇÃO DE PACHECO -----	18
4.5.6.4.3 REAÇÃO DE SHINODA OU REAÇÃO DE CIANIDINA -----	18
4.5.6.4.4 PESQUISA DE CUMARINAS -----	19
4.5.6.4.5 PESQUISA DE ANTRAQUINONAS -----	19
4.5.6.4.6 PESQUISA DE ESTERÓIS E TRITERPENOS -----	19
4.5.6.5 ENSAIO PARA EXTRATO AQUOSO -----	20
4.5.6.5.1 PESQUISA DE HETEROSÍDEOS ANTOCIÂNICOS -----	20
4.5.6.5.2 PESQUISA DE HETEROSÍDEOS SAPONÍNICOS -----	20
4.5.6.5.3 PESQUISA DE HETEROSÍDEOS CIANOGENÉTICOS -----	20
4.5.6.5.4 PESQUISA DE GOMAS, TANINOS E MUCILAGENS -----	20
4.5.6.5.5 PESQUISA DE TANINOS -----	20

4.5.6.5.6 PESQUISA DE AMINOGRUPOS -----	21
4.5.6.5.7 PESQUISA DE ÁCIDOS VOLÁTEIS -----	21
4.5.6.5.8 PESQUISA DE ÁCIDOS FIXOS -----	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	23
6. Conclusão -----	31
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	32
8. Cronograma de atividades -----	38

## 1. RESUMO

O cubiu é uma hortaliça da família Solanaceae, nativa da Amazônia, largamente distribuída através das regiões úmidas equatoriais do Brasil, Peru e Colômbia. É considerada uma excelente fonte nutritiva de sabor e aroma agradáveis, usada como alimento, medicamento e cosmético pelas populações tradicionais. Pesquisas têm mostrado que o extrato de cubiu possui atividade antioxidante e, seguindo a proposta de que os antioxidantes são substâncias extremamente importantes nos meios biológicos, buscou-se realizar a triagem fitoquímica, para identificar os grupos químicos principais que poderiam conferir a atividade antioxidante, e os testes antioxidantes *in vitro* (DPPH e ABTS) para avaliar a capacidade de sequestro dos radicais livres. O extrato hidroalcoólico a 70% foi preparado por meio de maceração da farinha do cubiu, assim como o extrato aquoso. Para o extrato hidroalcoólico foram realizadas as pesquisas para os seguintes grupos de substâncias: alcaloides, ácidos orgânicos, fenóis, heterosídeos flavônicos, cumarinas, antraquinonas, esteróis e triterpenos. No extrato aquoso os grupos foram: heterosídeos antociânicos, saponínicos e cianogénicos; gomas, taninos e mucilagens; taninos; aminogrupos; ácidos voláteis e ácidos fixos. Para os testes *in vitro*, utilizou-se o extrato hidroalcoólico a 70% nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. Os resultados obtidos mostraram que o fruto apresentou positividade para fenóis, heterosídeos flavônicos e antociânicos e taninos. Nos testes *in vitro* a atividade antioxidante, avaliada pela  $CI_{50}$  (Capacidade Inibitória de 50%) do extrato, não foi satisfatória. Os valores obtidos foram de 649,93 µg/mL para o DPPH (a substância de referência apresentou uma  $CI_{50}$  de 4,4 µg/mL) e no ABTS os resultados foram negativos. Portanto, apesar de conter inúmeras substâncias com potencial antioxidante em sua polpa, o Cubiu não possui uma alta ação redutora de radicais livres, pois quanto maior é a  $CI_{50}$  do extrato, menor é a sua capacidade antioxidante

Palavras chaves: Cubiu, antioxidante, triagem fitoquímica, DPPH, ABTS

## 2. INTRODUÇÃO

O Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), também chamado em países de língua espanhola de “tupiro”, “topiro”, “cocona” e conhecido como “Orinoco apple” e “peach tomato” em países de língua inglesa, é uma hortaliça da família Solanaceae, nativa da Amazônia (SILVA FILHO, 1999) e largamente distribuída através das regiões úmidas equatoriais do Brasil, Peru e Colômbia. Sua domesticação foi feita pelos índios da Amazônia Ocidental (SCHULTES, 1984).

A fruta pode pesar entre 20 e 450 gramas e conter entre 200 e 500 sementes ovais e achatadas. Os frutos possuem as mais diversas formas. Naqueles com forma cilíndrica há geralmente 4 lócus e nos cordiformes, redondos e achatados de 6 a 8, embora esse valor possa ser diferente em frutos da mesma planta. A cor do fruto é alterada conforme vai amadurecendo, variando de verde quando não está maduro para amarelo-alaranjado quando amadurece e finalmente para vermelho-café quando está pronto para ser consumido. São cobertos por pelos curtos que são facilmente removidos quando o fruto é esfregado nas mãos. Possuem uma polpa de cor que varia de amarelo claro a creme amarelado, medindo entre 0,2 a 2,5cm de espessura. (SILVA FILHO, 1998)

A polpa é a parte comestível do fruto. Como alimento, é consumido “in natura”, como tira-gosto de bebidas alcóolicas, geleias, doces, compotas, sucos e molhos (SILVA FILHO et al., 1993; Andrade, 1977).

As folhas maceradas da planta são utilizadas pelos índios peruanos e brasileiros para evitar a formação de bolhas no caso de queimaduras por fogo ou água fervente e como medicamento para cicatrizar ferimentos por picadas de aranha. O suco da cavidade locular do fruto é utilizado para amenizar o prurido (SALICK, 1989). O suco puro é utilizado para controlar colesterol, diabetes, excesso de ácido úrico e outros acometimentos causados pelo mau funcionamento dos rins e do fígado, além de ser utilizado para eliminar piolhos que parasitam o ser humano. (SALICK, 1989). Como cosmético pode ser utilizado para dar brilho aos cabelos (SILVA FILHO et al., 1997).

Trata-se de uma fruta suculenta com umidade entre 88 e 93%. Possui um conteúdo de sólidos solúveis (oBrix) variável entre 5 e 8, sendo na sua maioria de açúcares redutores (ANDRADE et al., 1997). A relação entre oBrix e a acidez da fruta é baixa, ou seja, ela é ácida. Isso garante um fator de diluição elevado (ótimo para a



produção de sucos) e pouca preferência pelo consumo *in natura* (fruto azedo). A composição de compostos fenólicos também é baixa (ANDRADE *et al.*, 1997).

**Tabela 1. Composição química do cubiu (*Solanum sessiliflorum*) em 100g de polpa integral (Pahlen, 1977; Andrade *et al.*,1996; Villachica, 1996; Yuyama *et l.*, 1997,1998)**

<b>Componente</b>	<b>Villachica</b>	<b>Pahlen</b>	<b>Andrade</b>	<b>Yuyama</b>
<b>Umidade (g)</b>	89	91	93	90
<b>Energia (kcal)</b>	41	33	31	45
<b>Proteína (g)</b>	0,9	0,6	-	0,9
<b>Lipídios (g)</b>	-	1,4	-	1,9
<b>Extrato livre de N (g)</b>	-	5,7	-	4,7
<b>Fibra (g)</b>	0,2	0,4	-	0,9
<b>Cinzas (g)</b>	0,7	0,9	-	0,9
<b>Açúcares totais (%)</b>	-	-	4,6	-
<b>Açúcares redutores (%)</b>	-	-	3,9	1
<b>Açúcares não-redutores (%)</b>	-	-	1,8	1
<b>Sólidos Solúveis (°Brix) %</b>	-	5	8	-
<b>Ácido Cítrico %</b>	-	-	0,8	-
<b>Brix/Acidez</b>	-	-	5,93	-
<b>Compostos fenólicos (mg)</b>	-	-	14,4	-
<b>Tanino (mg)</b>	-	-	142	-

Um fato importante observado nos valores nutricionais do Cubiu é que ele é altamente dietético, devido a seu baixo aporte calórico e alto teor de fibras. Isso sugere sua indicação na dieta de pacientes hipercolesterolêmicos e hiperglicêmicos. (YUYAMA *et al.*, 1997).

**Tabela 2 Composição vitamínica e mineral do cubiu (*Solanum sessiliflorum*) em 100g de polpa integral (Pahlen, 1977; Andrade et al., 1996; Villachica, 1996; Yuyama et al., 1997, 1998) e porcentagem da recomendação diária da National Research Council (1989)**

<b>Componente</b>	<b>Villachica</b>	<b>Pahlen</b>	<b>Andrade</b>	<b>Yuyama</b>	<b>%NCR</b>
<b>Ác. Ascórbico (mg)</b>	4,5	-	13,9	-	15,3
<b>Niacina (mg)</b>	2,3	2,5	-	-	14,1
<b>Caroteno (mg)</b>	0,2	0,2	-	-	-
<b>Tiamina (mg)</b>	0,1	0,3	-	-	15,4
<b>Riboflavina (mg)</b>	0,1	-	-	-	6,6
<b>Cálcio (mg)</b>	16	12	-	-	1,2
<b>Magnésio (mg)</b>	-	-	-	23,7	7,5
<b>Fósforo (mg)</b>	30	14	-	-	1,8
<b>Potássio (mg)</b>	-	-	-	385,4	19,3
<b>Sódio (mg)</b>	-	-	-	371	74,2
<b>Cobre (mg)</b>	-	-	-	329	14,6
<b>Ferro (mg)</b>	-	-	-	324	2,6
<b>Zinco (mg)</b>	-	-	-	157	1,1
<b>Manganês (mg)</b>	-	-	-	97	2,8

Em um estudo realizado na Universidade Particular Norbert Wiener em Lima (Peru), constatou-se que a administração de 40 ml/dia, durante três dias, de extrato de cubiu diminui o nível de LDL, triglicerídeos, colesterol e glicose séricos, além de elevar os valores séricos de HDL em 100 pessoas voluntárias de ambos os sexos (PARDO, 2004).

Além disso, foi encontrado nesse fruto um composto fenólico, denominado tanino. Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para seu crescimento e reprodução. Formam-se em condições de estresse como infecções, ferimentos, radiações UV (NACZK, 2004) e funcionam como antioxidantes naturais de segunda classe (MOREIRA, 2004).

De acordo com seu modo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Aqueles atuam interrompendo a cadeia da reação através da

doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre. Os antioxidantes secundários atuam retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação por diferentes mecanismos que incluem: complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singlete (ADEGOKE, 1998).

Os antioxidantes fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil devido a sua prevalência na etapa de auto-oxidação (DECKER, 1998). Esse mecanismo de ação, presente em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana conserva a qualidade do alimento e também reduz o risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose e câncer (RAMARATHNAM, 1995 e NAMIKI, 1990).

Devido a grande importância dos antioxidantes na medicina atual, viu-se a necessidade de pesquisar o potencial antioxidante do cubiu e, assim, elucidar o importante papel dessa fruta na dieta de inúmeras pessoas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Verificar a atividade antioxidante do extrato de Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) e de suas frações.

#### **3.2 Específicos**

1. Elaboração da farinha do Cubiu.
2. Elaborar um extrato hidroetanólico da farinha do Cubiu.
3. Identificar e verificar a presença de compostos fenólicos no extrato.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Matéria Prima**

O fruto do cubiu cresce em região de clima quente e úmido, com temperatura média entre 18° a 30° e um relativo de 85% no decorrer do ano.

Para este trabalho utilizamos o fruto do cubiu que foram provenientes da Estação Experimental de Hortaliças Alejo von der Pahlen (EEH) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizada no km 14 da Rodovia AM 010 em Manaus, AM.

Os frutos foram transportados em caixas de isopor até o Laboratório de Alimentos e Nutrição (INPA) onde foram processados para obtenção da farinha de cubiu utilizamos a metodologia proposta por SILVA FILHO *et al.*, (2005).

### **4.2 Preparação da farinha do cubiu**

Após o recebimento dos frutos, os mesmos passaram por uma seleção, onde os frutos maduros de aparência intacta (isentos de cortes, furos e outros defeitos) foram separados, visando à seleção de frutos saudáveis adequados ao processamento.

Posteriormente os frutos foram lavados e escovados, seguidos de sanitização em solução de hipoclorito a 200 ppm por 30 minutos, e enxaguados em água corrente. Após esse processo, foram desprovidos de suas polpas e tiveram a placenta (parte interna do fruto que contem as sementes e o suco da cavidade locular) e o epicarpo retirados com uma faca de aço inoxidável. A seguir foi feito o branqueamento térmico, à temperatura de 90°C por 3 minutos e choque térmico em banho de gelo por 3 minutos. Continuando o processo, os frutos foram acondicionados em sacos de polietileno de 2 kg cada e congelados à temperatura de -15°C até o momento da secagem.

Os frutos foram secos em estufa com circulação de ar forçada a 60°C por 48 horas. Após este período foram liquidificados, homogeneizados e acondicionados em sacos de polietileno de 2 kg e congelados à temperatura de -15°C até o momento da moagem em triturador doméstico para obtenção da farinha.

A farinha foi acondicionada em sacos plásticos, contendo 30 gramas cada. Depois de embalada, a farinha foi armazenada em freezer com temperatura -16° C, até o momento da preparação do extrato (figura 1).

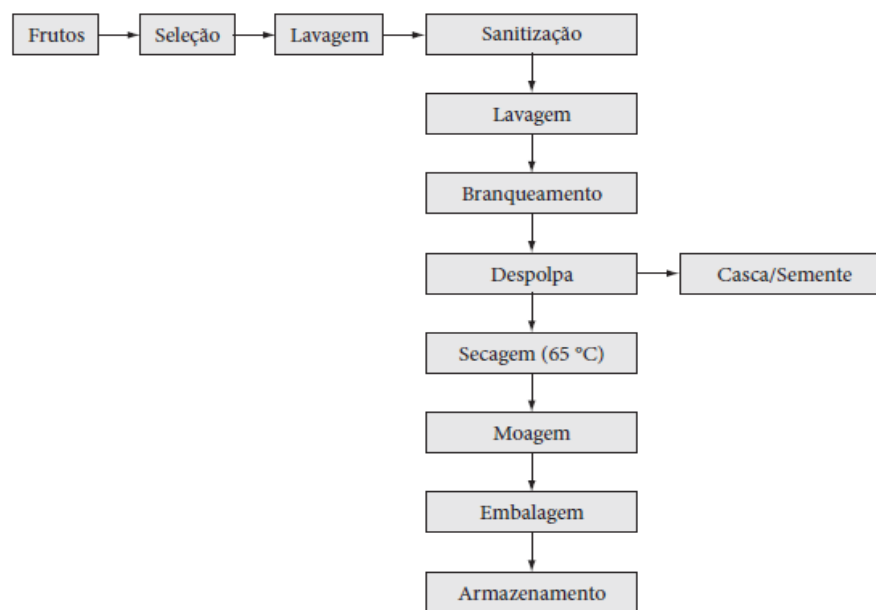


Figura 1- Processamento dos frutos para obtenção da farinha

Fonte: YUYAMA *et al.*, 2010 (modificada)

#### 4.3 Preparações dos extratos da farinha do cubiu

Os solventes orgânicos utilizados para a preparação dos extratos brutos a partir da farinha do cubiu, foram obtidos da Sigma, sendo de grau comercial.

O extrato foi preparado a partir de 2Kg da farinha do cubiu. Para verificar o grau de inibição da atividade enzimática foi utilizado o extrato hidroetanólico.

Primeiramente, foi pesado 2Kg da farinha do cubiu, adicionado 2L do solvente hidroetanólico. O solvente hidroetanólico foi preparado utilizando-se 500ml de água destilada mais 1.500mL de álcool etílico.

Posteriormente, cada mistura foi colocada no ultrassom (Unique Ultrasonic Cleaner) por 15 minutos para uma completa homogeneização e posteriormente foi filtrada em papel de filtro descartável através de um funil de vidro. Esse processo foi realizado 3 vezes. Após isso o extrato foi filtrado a vácuo utilizando-se o funil de Buchner e o kitassato.

Posteriormente, as massas e volumes conhecidos de extratos foram colocados em um balão de fundo redondo e levados ao rotaevaporador com banho termostatizado a 25°C até atingir massa constante. Os extratos na forma viscosa foram postos novamente na capela, e depois liofilizados no liofilizador. Após isso, foram mantidos em freezer a -11° para uso posterior (ROGÉRIO, 2006).

#### **4.4 Delineamentos do experimento**

O presente projeto investigou a presença de compostos fenólicos no extrato obtido a partir da farinha do cubiu para isto foi realizado:

#### **4.5 Avaliações da capacidade antioxidante**

##### **4.5.1 Método DPPH**

O método DPPH baseia-se na redução dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) através da doação de um átomo de hidrogênio do composto em estudo (polifenol) à molécula do radical (ARUOMA et al., 1997). Para essa análise utiliza-se uma solução alcoólica de DPPH, que absorve no comprimento de onda próximo de 517nm, e à medida que seu elétron deixa de ser desemparelhado a absorção decresce e ocorre a mudança de coloração frente às moléculas antioxidantes testadas (DI MAMBRO et al., 2005).

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH• foi realizada de acordo com a metodologia descrita por MOLYNEUX (2004) com algumas modificações. Inicialmente foi pesado 2 mg de DPPH e dissolvido em 12 mL de etanol absoluto. Em uma placa de 96 poços de fundo chato foi adicionado 270 µL da solução etanólica de DPPH mais 30µL de etanol. Esta solução foi monitorada pela leitura em 492 nm no leitor de microplaca (DTX 800, Beckman) até obter absorbância aproximadamente 1,00 ( $\pm 0,1$ ). Em seguida, o ensaio consistiu de 270 µL da solução etanólica de DPPH mais 30 µL dos compostos triterpenóides nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. A reação foi incubada por 30 minutos a temperatura ambiente e na ausência de luz. Após a incubação foi feita a leitura em 492 nm. Para expressar a atividade antioxidante foi calculado a CI50, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH inicial da reação. Como padrões desse ensaio foi utilizado como antioxidante de referência a quercetina.

A atividade antioxidante será calculada pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = 100 - (\text{abs amostra} / \text{abs controle}) \times 100$$

##### **4.5.2 Método ABTS**

O método é baseado na redução do ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) e foi realizado conforme descrito por RE et al. (1999) com modificações. Foi preparada uma solução catiônica de ABTS, misturando em

partes iguais (v:v) 5 mL de solução ABTS 7,0 mM e 5 mL de solução de persulfato de potássio 5 mM que reagiu por 12 horas, em temperatura ambiente e ausência de luz. Depois de formado o radical ABTS•+, foi adicionado etanol à solução (diluição 1:7). Em uma placa de 96 poços de fundo chato foi adicionado 270 µL da solução etanólica de ABTS mais 30µL de etanol. Esta solução foi monitorada pela leitura em 714 nm no leitor de microplaca (DTX 800, Beckman) até obter absorvância aproximadamente 1,00 (±0,1). Em seguida, o ensaio consistiu de 270 µL da solução etanólica de ABTS mais 30 µL dos compostos triterpenóides nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. A reação foi incubada por 15 minutos a temperatura ambiente e na ausência de luz. Após a incubação foi realizada a leitura no leitor de microplaca (DTX 800, Beckman) em 714 nm. Para expressar a atividade antioxidante foi calculado a CI50 e como padrões desse ensaio foram utilizados como antioxidantes de referência o trolox.

A atividade antioxidante será calculada pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = 100 - (\text{abs amostra} / \text{abs controle}) \times 100$$

#### **4.5.3 Ensaio Sistemático de Análise em Fitoquímica**

Este ensaio analisa todas as características qualitativas dos principais grupos químicos que constituem os princípios ativos das drogas vegetais, utilizando em cada caso reações de coloração e ou precipitação.

O ensaio sistemático de análise em fitoquímica foi realizado de acordo com MOREIRA (1979) pelo método de maceração, extrato aquoso a 20% (vinte por cento) e extrato hidroalcoólico a 20% (vinte por cento) do vegetal em estudo.

#### **5.5.4 Preparo do extrato hidroalcoólico a 70%**

A extração foi realizada por maceração de 40 g do pó de frutos secos de *Solanum sessiliflorum* em 200 mL de álcool etílico a 70% (setenta por cento). A mistura será, posteriormente, colocada em aparelho de ultrassom a 50° C por 10 min. O macerado será filtrado por meio de papel de filtro e volume completado com o mesmo solvente até 200 mL. O extrato será mantido sob refrigeração até a realização dos ensaios fitoquímicos.

#### **4.5.5 Preparo do extrato aquoso**



A extração será realizada por maceração de 40 g do pó de frutos secos de *Solanum sessiliflorum* em 200 mL de água destilada. A mistura será, posteriormente, colocada em aparelho de ultrassom a 50° C por 10 min. O macerado será filtrado por meio de papel de filtro e volume completado com o mesmo solvente até 200 mL. O extrato será mantido sob refrigeração até a realização dos ensaios fitoquímicos.

#### **4.5.6 Ensaios para extrato hidroetanólico**

##### **4.5.6.1 Pesquisa de alcalóides**

Esta pesquisa foi realizada utilizando-se os reativos gerais de alcalóides (Mayer, Dragendorff, Bouchardart e Berthrand) da seguinte forma: levar à secura 50 mL de extrato hidroalcoólico em banho-maria a 70%, seguido de dissolução do resíduo em 1 mL de etanol e 20 mL de ácido clorídrico a 1%. Transferir o extrato clorídrico em 5 tubos de ensaio (1 mL em cada tubo) e adicionar em cada um os reativos mantendo o quinto tubo como branco. O aparecimento de precipitado indica reação positiva. Para contra-prova, 15 mL do extrato hidroalcoólico devem ser transferidos para um funil de separação e alcalinizados com hidróxido de amônio até pH 10. Efetuar extração com a mistura éter/clorofórmio (3:1) e submeter o extrato às mesmas reações de alcalóides.

##### **4.5.6.2 Pesquisa de ácidos orgânicos**

O excedente da solução etérea da pesquisa de alcalóides foi levado à secura e redissolvido em 5 mL de água destilada. O pH ácido desta solução indica a presença de ácidos orgânicos.

##### **4.5.6.3 Pesquisa de fenóis**

Utilizar 2 mL da solução obtida na pesquisa de ácidos orgânicos adicionando 2 gotas de solução aquosa de cloreto férrico 1%. O desenvolvimento de coloração confirma a presença de fenóis.

##### **4.5.6.4. Pesquisa de heterosídeos flavônicos**

#### **4.5.6.4.1 Reação de Taubock ou oxalo-bórica**

Levar a secura em banho-maria 10 mL de cada uma das frações. Ao resíduo seco, adicionar 5 gotas de acetona e 30 mg de uma mistura de ácido bórico e ácido oxálico, na proporção de 1:1. Agitar e levar à secura. Ao resíduo, adicionar 5 mL de éter etílico, transferindo então para tubos de ensaio. Visualizar sob ultravioleta (UV).

Considera-se reação com resultado positivo quando observada fluorescência amarelo-esverdeada.

#### **4.5.6.4.2 Reação de Pacheco**

Em cápsulas de porcelana, colocar 10 mL de cada fração e levar à secura em banho-maria. Adicionar ao resíduo seco alguns cristais de acetato de sódio (AcONa) e 0,1 mL de anidrido acético, aquecendo em banho-maria. Em seguida, adicionar 0,1 mL de HCl concentrado.

A reação será considerada positiva quando houve aparecimento de coloração roxa.

#### **4.5.6.4.3 Reação de Shinoda ou Reação de Cianidina**

Em um tubo de ensaio transferir 5 mL de extrato hidroalcoólico e adicionar 200 mg de limalha de magnésio e 1 mL de ácido clorídrico fumegante pelas paredes do tubo.

A formação de cor alaranjada indica presença de flavonóis.

#### **4.5.6.4.4 Pesquisa de cumarinas**

Transferir para um béquer 30 mL de extrato hidroalcoólico e acidificar até pH 1, concentrar em banho-maria a 60°C até 10 mL. Adicionar ao resíduo 5 mL de água deionizada e extrair em funil de separação com éter etílico em 3 porções de 10 mL. Reduzir o volume do extrato orgânico para 5 mL em banho-maria a 60°C. Colocar 3 gotas do extrato etéreo em 2 pontos de um papel de filtro previamente marcado, deixar secar e adicionar 1 gota de hidróxido de sódio 1N em cada mancha. Cobrir uma das manchas com moeda e observar sob luz UV de ondas longas. A fluorescência azul ou verde-amarelada indica reação positiva.

#### **4.5.6.4.5 Pesquisa de antraquinonas**

Foi levado à fervura 20 mL do extrato alcoólico por 15 minutos sob refluxo adicionando 3 mL de ácido sulfúrico 10%. Após o resfriamento transferir para um funil de separação junto com 30 mL de água destilada e extrair 3 (três) vezes com 10 mL de tolueno. O extrato toluênico é concentrado a 10 mL e transferido para um tubo de ensaio. Agitar com 10 mL de solução reagente de hidróxido de sódio. O aparecimento de coloração rósea ou avermelhada indica a presença de hidroxiantraquinonas e naftoquinonas.

#### **4.5.6.4.6 Pesquisa de esteróis e triterpenos**

Foram evaporados 20 mL do extrato alcoólico e extrair com 3 (três) vezes sucessivas de 5 mL de diclorometano. Concentrar os extratos obtidos a um volume de 3 mL e transferir para um tubo de ensaio, onde foram adicionados 2 mL de anidrido acético. Cautelosamente adicionar 3 gotas de ácido sulfúrico. O desenvolvimento de coloração azul passando a verde demonstra a presença de esteróides e /ou triterpenos.

#### **4.5.6.5 Ensaio para extrato aquoso**

##### **4.5.6.5.1 Pesquisa de heterosídeos antociânicos**

Separar 3 porções de 5 mL do extrato aquoso em 3 tubos de ensaio e neutralizá-los com solução de hidróxido de potássio 5% até obter os pHs 5,5 (pH do extrato aquoso), 7,0 (neutro) e 9,5 (básico). Mudança na coloração das porções neutralizadas indica presença de heterosídeos antociânicos.

##### **4.5.6.5.2 Pesquisa de heterosídeos saponínicos**

Agitar os 3 tubos obtidos no ensaio de heterosídeos antociânicos energicamente durante 5 minutos. Espuma persistente em um dos tubos indica a presença de saponinas, confirmada pela adição de solução aquosa de ácido clorídrico 1%.

##### **4.5.6.5.3 Pesquisa de heterosídeos cianogénéticos**

Transferir 15 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio, com o cuidado, para não umedecer as paredes superiores. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico 1N e então prender com auxílio de uma rolha uma tira de papel picro-sódico dentro do tubo. Levar

o tubo de ensaio ao banho Maria em temperatura de 60°C por 30 minutos. A formação de cor vermelha no papel indica a presença de heterosídeos cianogénéticos.

#### **4.5.6.5.4 Pesquisa de gomas, taninos e mucilagens**

Em 2 porções de 5 mL do extrato aquoso adicionar 5 gotas de solução de acetato básico e acetato neutro de chumbo 10%. A formação de precipitado é indicativa da presença de gomas, taninos e mucilagens.

#### **4.5.6.5.5 Pesquisa de taninos**

Adicionar a 5 mL de extrato aquoso, 5 gotas de cloreto férrico 1%. Na formação de precipitado escuro, transferir 5 mL do extrato aquoso para um balão de fundo chato de 100 mL e nele acrescentar 5 gotas de formaldeído a 37% e 4 mL de ácido clorídrico. Levar a mistura para o refluxo por 1 hora. Após seu resfriamento, filtrar a solução e lavar o material retido com água destilada e álcool. Se no material retido no filtro houver a formação de coloração pela adição de algumas gotas de solução aquosa de hidróxido de potássio 5%, indica a formação de taninos condensados. Se no filtrado, pelo excesso de acetato de sódio e a adição de 10 gotas de cloreto férrico 1%, houver formação de precipitado escuro ou azul, indica a presença de taninos hidrolisáveis.

#### **4.5.6.5.6 Pesquisa de aminogrupos**

Concentrar 10 mL de extrato aquoso à metade sob temperatura de 50°C. Em um papel de filtro depositar 5 gotas do extrato concentrado e após secar, nebulizar com solução butanólica de ninhidrina. Aquecer em estufa a 90-100°C por 15 minutos. Se houver o aparecimento de cor azul-violácea indica a presença de aminogrupos.

#### **4.5.6.5.7 Pesquisa de ácidos voláteis**

Acidificar 10 mL do extrato aquoso com ácido sulfúrico 1N e ferver em um tubo de ensaio em banho-maria. Com papel indicativo de pH medir a acidez dos vapores. A coloração ácida indica a presença de ácidos voláteis.

#### **4.5.6.5.8 Pesquisa de ácidos fixos**

Transferir 20 mL de extrato para um balão de destilação juntamente com 2 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 1N. Levar o conteúdo ao refluxo por 30 minutos, resfriar e acidular com ácido sulfúrico 1N e extrair 3 vezes com 10 mL de éter etílico. Reunir os extratos etéreos, filtrar e levar à secura. Aquecer o resíduo durante 10 minutos a 100°C e após, adicionar 5 mL de solução de hidróxido de amônio 1N, filtrar novamente e transferir para um papel de filtro 3 gotas de modo a obter uma mancha de 1 cm de diâmetro. Secar o papel em estufa a 100°C por 10 minutos e então tratá-lo com o Reagente de Nessler. O desenvolvimento de coloração indica a presença de ácidos fixos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do Ensaio Sistemático de Análise em Fitoquímica podem ser observados na tabela 3 e na tabela 4.

**Tabela 3. Ensaio para o extrato hidroetanólico a 70% do fruto de *Solanum sessiliflorum* Dunal**

CLASSES DE COMPOSTOS	POSITIVO	NEGATIVO
<b>ALCALOIDES</b>		
Reativo de Mayer:		-
Reativo de Dragendorff	++	
Reativo de Bouchardat		-
Reativo de Bertrand:	++	
Reação de confirmação	Dragendorff e Bertrand	
<b>ÁCIDOS ORGÂNICOS</b>	++ pH = 5,5 a 6	
<b>FENÓIS</b>	+++	
<b>HETEROSÍDEOS FLAVÔNICOS</b>		
Reação de Taubock ou oxalo-bórica	+++	
Reação de Pacheco		-
Reação de Shinoda	+	
<b>CUMARINAS</b>	+	
<b>ANTRAQUINONAS</b>		-
<b>ESTERÓIS E TRITERPENOS</b>		-
+++ Fortemente positivo / ++ positivo / + traços / - negativo		

Nesse primeiro ensaio, notou-se positividade para a presença de alcalóides e a maioria deles se precipita em meio neutro ou levemente ácido, como mostrado na figura 2. Deve-se ressaltar que esses precipitados também podem ser causados por proteínas, purinas, alfa-pironas, algumas cumarinas, hidroxifenóis e lignanas. Assim resultados negativos com estes reagentes são indicativos da ausência de alcalóides, enquanto a formação de precipitados pode ser considerada apenas como provável presença dos mesmos. (SIMÕES, 2003)

<b>RGAs</b>	<b>Composição</b>	<b>Cor do precipitado</b>
1. Mayer	Iodo bismuto de potássio	Alaranjado
2. Dragendorff	Iodo mercurato de potássio	Branco
3. Bertrand	Ácido sílico-túngstico	Branco
4 Bouchard/Wagner	Iodo-iodeto de potássio	Marrom

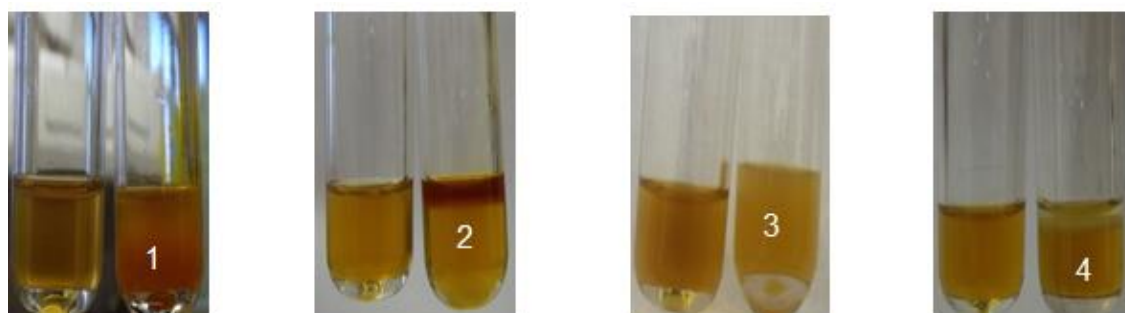


Figura 2 - A reação foi positiva em relação ao controle em todos os tubos de ensaio. Controle a esquerda na foto sem precipitação. No teste de confirmação, apenas nos tubos 2 e 4 houve precipitação

FONTE: Própria

Constatou-se também uma forte positividade para fenóis (figura 3), contrariando o proposto por Andrade (1997) que relatou uma quantidade relativamente baixa de compostos fenólicos (14,4mg) em 100g de polpa integral de Cubiu. Segundo Moreira (2004), compostos fenólicos são antioxidantes naturais de segunda classe ou secundários. Essa classe de antioxidantes atuam retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação por diferentes mecanismos, como por exemplo, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical (ADEGOKE, 1998). Esse dado corrobora com uma possível atividade antioxidante presente no Cubiu.

Confirmou-se a característica ácida da fruta, que nesse ensaio mostrou um pH entre 5,5 – 6 e que no trabalho proposto por Andrade (1997) foi evidenciada pela relação entre oBrix (conteúdo de sólidos solúveis) e a acidez da fruta. O resultado dessa divisão foi baixo, mostrando seu potencial ácido.

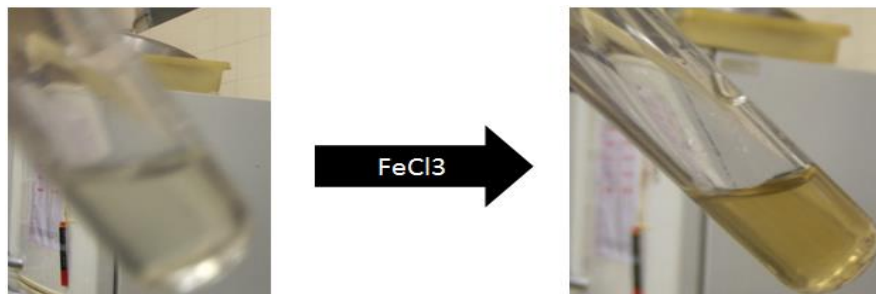


Figura 3 - Mudança de coloração = A coloração de fenóis varia de amarelo até preto.

FONTE: Própria

No ensaio também foi evidenciado a presença de heterosídeos flavônicos (figura 4). Ensaio biológico usando combinações isoladas revelam que os flavonóides exibem uma grande ação sobre os sistemas biológicos demonstrando efeitos antimicrobiano, antiviral, antiulcerogênico, citotóxico, antineoplásico, antioxidante, antihepatotóxico, antihipertensivo, hipolipidêmico, antiinflamatório, antiplaquetário. Também demonstrou aumento na permeabilidade capilar, inibição da exudação protéica e migração de leucócitos (PELZER et al., 1998). Estes efeitos podem estar relacionados às propriedades inibitórias que os flavonóides desempenham nos vários sistemas enzimáticos incluindo hidrolases, isomerases, oxigenases, oxidoredutases, polimerases, fosfatases, proteínas, fosfoquinasas e aminoácido oxidases (FERGUSON, 2001).



Figura 4 - Após a adição de Mg, a coloração mudou de um amarelo escuro para um bem claro.

FONTE: Própria



Já no segundo ensaio (tabela 4), notou-se a presença de heterosídeos antociânicos, taninos, ácidos (voláteis e fixos) e em maior quantidade, aminogrupos e o grupo composto por gomas, taninos e mucilagens.

Os heterosídeos antociânicos ou antocianinas, são substâncias pertencentes à família dos flavonóides. São pigmentos que conferem cor a flores, frutos, folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982). Em estudos posteriores, foi constatada sua ação inibitória sobre a peroxidação lipídica (NARAYAN, 1999) e sua ação protetora em células epiteliais vasculares contra espécies reativas de oxigênio, principalmente ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induzido por perda da viabilidade celular (YOUDIM, 2000).

**Tabela 4. Ensaio para o extrato aquoso do fruto de *Solanum sessiliflorum* Dunal**

<b>GRUPO QUÍMICO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>
<b>HETEROSÍDEOS ANTOCIÂNICOS</b>	++	
<b>HETEROSÍDEOS SAPONÍNICOS</b>		-
<b>HETEROSÍDEOS CIANOGENÉTICOS</b>		-
<b>GOMAS, TANINOS E MUCILAGENS</b>	+++	
<b>PESQUISA DE TANINOS</b>	+	
<b>PESQUISA DE AMINOGRUPOS</b>	+++	
<b>PESQUISA DE ÁCIDOS VOLÁTEIS</b>	++	
<b>PESQUISA DE ÁCIDOS FIXOS</b>	+	

+++ **Fortemente positivo** / ++ **positivo** / + **traços** / - **negativo**

Os aminogrupos, como o nome já sugere, são compostos ligados a um radical NH<sub>2</sub>, são estruturalmente semelhantes aos alcalóides e não possuem atividade oxidante, devido aos poucos radicais redutores presentes nas suas estruturas (SIMÕES, 2003).



Figura 5 - Coloração indicando a presença de aminogrupos

FONTE: Própria

As gomas, de um modo geral, são consideradas produtos patológicos resultantes de uma ação física sofrida pelos tecidos vegetais, pela ação de micro-organismos que parasitam as plantas ou devido a condições desfavoráveis, tais como a seca. Mucilagens possuem características semelhantes as gomas, sendo produzidas fisiologicamente. Ambos não possuem características antioxidantes. (Disponível em: <<http://sbfgnosia.org.br/Ensino/Gomas.html>> Acesso em 02/03/2013).

Os taninos, como já citado anteriormente, são compostos fenólicos que atuam como antioxidantes secundários, retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação do organismo (MOREIRA, 2004).



Figura 6 – formação de precipitado branco a direita e a esquerda está o controle. Indicativo da presença de gomas, taninos e mucilagens

FONTE: Própria

Na segunda etapa do trabalho foi avaliada a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico do cubiu utilizando testes *in vitro*: DPPH e ABTS.

Nesse estudo, a capacidade de sequestro do extrato hidroetanólico a 70% do cubiu foi expressa como concentração final do extrato necessária para inibir a oxidação do radical DPPH em 50% (Figura 7). As substâncias antioxidantes presentes no extrato reagem com o DPPH, que é um radical estável, e convertem-no em 2,2-difenil-1-picril hidrazina. O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato (Figura 8). Um extrato que apresenta alto potencial antioxidante possui baixo valor de IC<sub>50</sub> (JAYAPRAKASHA,2007). A CI<sub>50</sub> do Cubiu foi de 649,93 µg/mL, um valor alto comparada com a quercetina (CI<sub>50</sub> de 4,4 µg/mL), substância de referência utilizada. Em um estudo que compara a atividade antioxidante de frutas do cerrado, os menores valores de IC<sub>50</sub> foram obtidos pelo ácido gálico (1,38 µg/mL), extrato etanólico e aquoso de casca de pequi (9,44 e 17,98 µg/mL, respectivamente), extrato etanólico de semente de cagaita (14,15 µg/mL), extrato etanólico de semente e casca de araticum (30,97 e 49,18 µg/mL, respetivamente) (ROESLER, 2007). Em um outro estudo, avaliaram a capacidade antioxidante de vários tipos de laranja e para tanto, utilizou-se 500 µL de suco da amostra diluído para a realização do método de DPPH. As laranjas com melhor atividade antioxidante foram a Laranja lima (66,24%) e a Laranja bahia (60,32%) (COUTO, 2010).

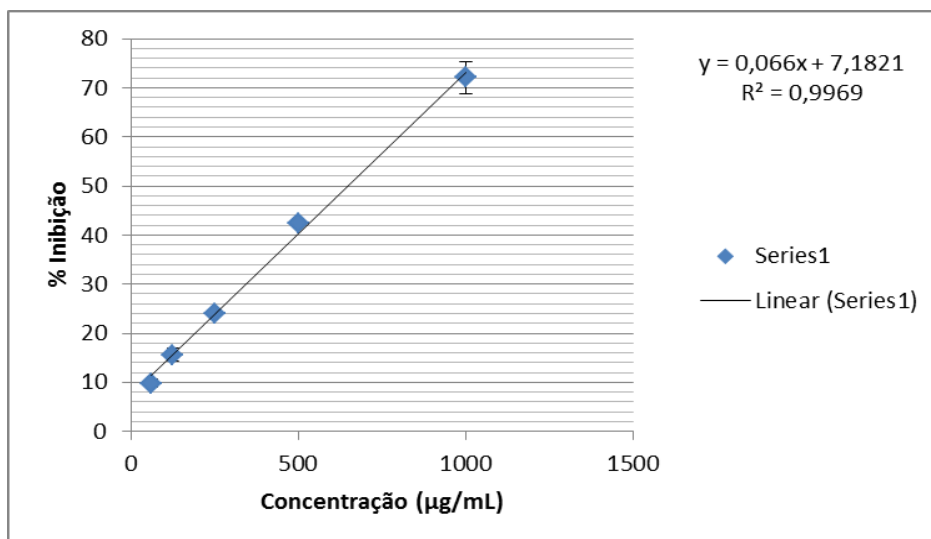


Figura 7 – Gráfico da CI<sub>50</sub> do Cubiu

FONTE: Própria

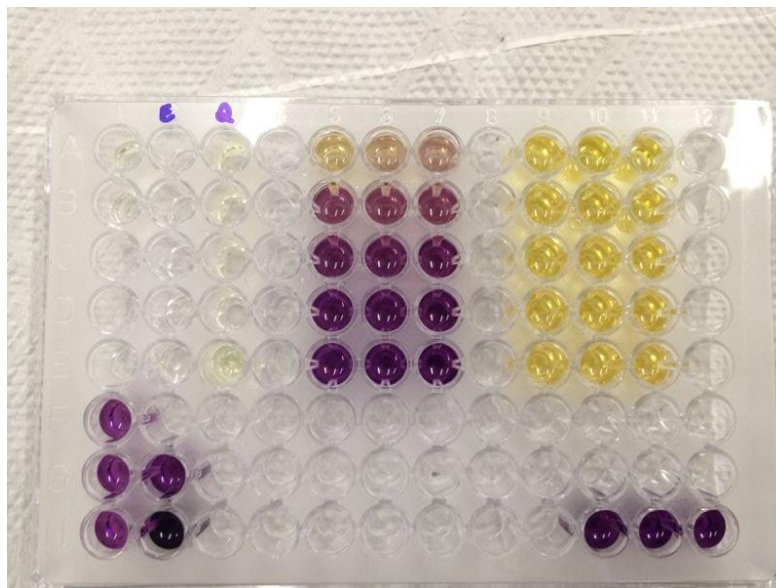


Figura 8 – Placa de 96 poços utilizada no teste de DPPH. Notar a ausência de inibição do cubiu com  $CI_{50}$  de 649,93  $\mu\text{g/mL}$  (roxo) nas 3 colunas centrais comparado à quercetina com  $CI_{50}$  de 4,4  $\mu\text{g/mL}$  (amarelo).

FONTE: Própria

A atividade antioxidante de diferentes amostras é difícil de ser comparada, pois os autores utilizam diferentes diluições das amostras para a realização da análise, já que cada amostra apresenta um poder antioxidante diferente. Além disso, as análises e formas para expressar os resultados são diversas. Stratil (2007) relata que a comparação de resultados referentes à capacidade antioxidante publicados nos métodos individuais e entre populações do mesmo método é frequentemente problemática.

Com relação aos resultados obtidos pelo método de ABTS (Figura 9), os valores foram negativos, impossibilitando a confecção da reta da  $CI_{50}$ . Isso nos mostra que a capacidade antioxidante foi tão pequena que não foi detectada. Em um estudo realizado em Cingapura, o método do ABTS foi utilizado para avaliar a Capacidade Antioxidante Equivalente ao L-Ácido Ascórbico (CAEA) e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico (AA) por 100g do homogeneizado contendo o extrato da fruta. No estudo, a fruta com maior capacidade antioxidante foi o sapoti (3396 mg/100g), seguidos pelo morango (472 mg/100g), ameixa (312 mg/100g) e carambola (278 mg/100g) (LEONG, 2002). Dos Santos (2008) avaliou a capacidade antioxidante de polpas comerciais de açaí e para tal foi utilizado o método do ABTS, sendo os resultados expressos como TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox). O TEAC das polpas de açaí variou de 10,21 a 52,47  $\mu\text{M}$  de Trolox/g de amostra. Isso

confirma a dificuldade de comparar a atividade antioxidante relatada nos trabalhos, pois cada um utiliza um método diferente para avaliá-la.

Os resultados desse estudo foram conflitantes quando comparados com os de outros estudos sobre o fruto. Nascimento e Pereira (2011) utilizaram o método DPPH e afirmaram que os extratos obtidos com metanol continham a fração de maior atividade antioxidante de todas as partes da fruta (entre 100 e 200 mE de BHT/g de material liofilizado), o que explica o fato de que no presente estudo a atividade tenha sido baixa, pois o extrato utilizado foi hidroalcoólico. Outro dado interessante do estudo é que de todos os extratos, a casca se destacou com maior atividade antioxidante do que as outras partes do fruto, parte que normalmente é descartada nas preparações alimentares. LEDUR, *et al.* (2012) utilizou o extrato hidroalcoólico a 70%, utilizou o método DPPH para avaliar a capacidade antioxidante do extrato e os resultados obtidos foram de que o extrato da casca do cubiu apresentou o menor potencial de inibição 50% (PI50%) quando comparado ao extrato da semente e da polpa (278,7  $\mu\text{g/mL}$  e 309,98  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente), resultados inferiores aos obtidos no presente trabalho, mas que corroboram o fato do cubiu ter uma pequena atividade antioxidante.

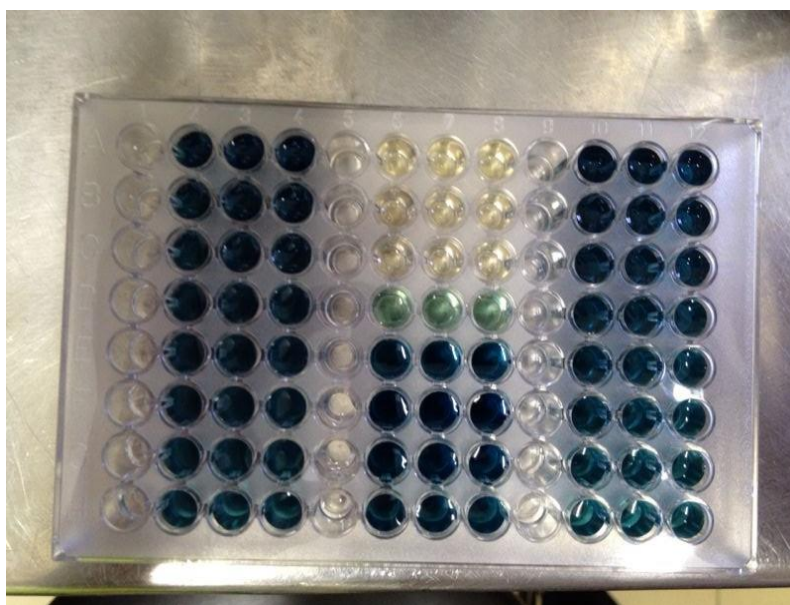


Figura 9 – Placa de 96 poços utilizada no teste de ABTS. Notar a ausência de atividade antioxidante nas 3 últimas colunas a direita (azul escuro), comparada às colunas centrais com Trolox (transparente).

FONTE: Própria.

## 6. CONCLUSÃO

Seguindo os objetivos desse trabalho, foi confeccionada a farinha do fruto do Cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal), houve a preparação do extrato hidroetanólico a 70% para as análises fitoquímicas e para os testes antioxidantes e foram realizadas as análises fitoquímicas do extrato hidroetanólico.

Notou-se, através dos testes fitoquímicos, a presença de compostos fenólicos e flavônicos no extrato. Tais substâncias são reconhecidas na literatura por seu grande potencial antioxidante.

Contudo, apesar dessas características, o extrato do cubiu mostrou uma atividade antioxidante muito inferior a outras frutas como sapoti, morango, laranja, acerola e tantas outras conhecidas pelo seu grande efeito antioxidante.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGOKE, G.O, *et al.* Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. *J Food Sci Technol*, v. 35, n 4, p. 283-398. 1998.

ANDRADE, J. S.; ROCHA, I. M. A.; SILVA FILHO, D. F. Características físicas e composição química de frutos de populações naturais de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) encontradas na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 1997.

ARUOMA, O. I.; SPENCER, J.P.E.; WARREN, D.; JENNER, P.; BUTLER, J.; HALLIWELL, B. Characterization of food antioxidants, illustrated using commercial garlic and ginger preparations. *Food Chemistry*, v. 60, n. 2, p. 149-156, 1997.

BRENNA, O.V., PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food Chemistry*, v.49, p. 4841-4844. 2001.

COITINHO, D.C; LEÃO, M.M; RECINE, E. Condições nutricionais da população Brasileira: adultos e idosos. Ministério da Saúde, p. 39. 1991.

COUTO, E. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 30, n. 1, p. 15-19, maio. 2010.

DECKER, E.A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci Technol*, n. 9, v, 6, p. 241-8. 1998.

DI MAMBRO, V. M.; MARQUELE, F. D.; FONSECA, M. J. V. Avaliação *in vitro* da ação antioxidante em formulações antienvhecimento. *Cosmetics & Toiletries* (edição em português), v. 17, n. 4, p. 74-78, 2005.

DOS SANTOS, G. M. *et al.* Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, vol. 58 n. 2, p. 187-192. 2008.

DUTRA, O. P, *et al.* II Diretriz brasileira de cardiopatia grave. *Arq. Bras. Cardiol*, v.87, n. 2. 2006.

FERGUSON, L. R. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research.*, v. 475, p. 89111, 2001.

FRANCISCHI, R.P.R., *et al.* Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. *Rev Nutr*, v.13, n.1, p. 17-28. 2000.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, v. 101, n. 1, p. 410-418. 2007.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruit in Singapore markets. *Food Chem.*, Washington, v.76, p.69-75. 2002.

LEDUR, P. C. *et al.* Determinação da capacidade antioxidante do extrato bruto de *Solanum sessiliflorum* (Cubiu). Disponível em: <<http://www.unifra.br/eventos/sepe2012/Trabalhos/6054.pdf>> Acesso em 08/08/2013.

MARKAKIS, P. Stability of Anthocyanins in foods. In: Markakis, P. Anthocyanins in color foods. New York, Academic Press. p. 163-180. 1982.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarín J. Sci. Technol.*, v. 26, p. 211-219, 2004.

MOREIRA, A.V. B; MANCINI FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. *Rev Nutr* , v. 17, n. 4, p. 411-24. 2004.



MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. Tribuna farmacêutica. V. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.

NACZK, M; SHAHIDI, F.. Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogr A , v. 1054, n. 1/2, p. 95-11. 2004.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. Crit Rev Food Sci Nutr., v. 29, n.4, p. 273-300. 1990.

NARAYAN, M. S. *et al.* Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, n. 1, v. 60, p. 1-4, 1999.

NASCIMENTO, G. S.; PEREIRA, I. R. O. Avaliação da atividade antioxidante das partes da fruta Cubiu (*Solanum sessiliflorum*). In: Jornada de Iniciação Científica, 7, São Paulo, 2011. Anais... São Paulo: Universidade Presbiteriana Mackenzie, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Recommended Dietary Allowances. 10.ed. Material Academy Press. 1989

PAHLEN, A. V. D. Cocona (*Solanum tojiro* Humbl & Bonpl.), um fruto do Amazonas. A Colheita Amazônica. Vol. 7, p. 301-307. 1977

PARDO, M. A. Efecto de *Solanum sessiliflorum* Dunal sobre el metabolismo lipídico y de la glucosa. Ciencia e Investigación, v.8, n. 2. 2004.

PELZER, E. L. *et al.* Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. **II Farmaco**. v. 53, p. 421-424, 1998.

RAMARATHNAM, N *et al.* The contribution of plant food antioxidants to humans health. Trends Food Sci Nutr, v. 6, n. 3, p. 75-82. 1995.

RAMARATHNAM, N *et al.* The contribution of plant food antioxidants to humans health. Trends Food Sci Nutr, v. 6, n. 3, p. 75-82. 1995.

RE, R *et al.*. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RODRIGUES, M. V. N *et al.* Emprego de técnicas hífenadas no estudo de plantas medicinais. *Multiciência: Construindo a história dos produtos naturais*, v.7, 2006.

ROESLER, R. *et al.* Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, vol. 27, n. 1, p. 53-60, jan/mar. 2007.

ROGÉRIO, A.P. Estudo da atividade anti-inflamatória, analgésica, anti-edematogênica e antipirética do extrato de *Lafoensia pacari* e do ácido elágico. Tese de doutorado. Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2006.

SALICK, J. Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), na overview of productions and breeding potentials. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NEW CROPS FOR FOOD INDUSTRY. Southampton: University Southampton, p. 125-129. 1989

SANTOS, R.; KRIEGER, E.M.,; GREENE, L.J. An improved fluorometric assay of rat serum and plasma converting enzyme. *Hypertension*, v.7, p. 244-252, 1985.

SCHULTES, R. E. Amazonian cultigens and their northward migrations in pre-Colombian times. Haward University Press, p. 19-38. 1984

SERRA, C.P. *et al.* Validation of a colorimetric assay for the *in vitro* screening of inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE) from plant extracts. *Phytomedicine*, v. 12, n. 6 – 7. 2005

SILVA FILHO, D. F.*et al.* Caracterização e avaliação do potencial agrônômico e nutricional de etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. *Acta Amazonica* v.35, n.4, p.399-406, 2005.

SILVA FILHO, D. F. da *et al.* Correlações fenotípicas, genéticas e ambientais entre descritores morfológicos e químicos em fruto de cubiu (*Solanum sessiliflorum* DUNAL) da Amazônia. *Acta Amazônica*, v. 29, n. 4, p. 503-511. 1999

SILVA FILHO, D.F.; ANUNCIACÃO FILHO, C.J.; NODA, H. Estimações de heranças e correlações entre caracteres em populações de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) do Amazonas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.20, n.1. 1998.

SILVA FILHO, D.F.; NODA, H.; CLEMENT, C.R. Genetic variability of economic characters in 30 accessions of cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) evaluated in Central Amazonia. *Revista Brasileira de Genética*, v. 16, n.2, p. 409-417. 1993.

SIMÕES, C. M. O., GOSMANN, G., SCHENEL, E. P. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis. UFRGS e UFSC. 2003.

STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, v. 71, n. 4, p. 1741-1751. 2007.

VASCONCELOS, Sandra *et al.* Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativos em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim. Nova*, v. 30, n. 5, p. 132-2338. 2007.

VILLACHICA, H. Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal), frutas e hortaliças promissoras. Hugo Villachica. Lima: Secretaria Pro-Tempore, p. 98-102. 1996.

WILD, S. *et al.* Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, v. 27, n. 5, p. 1047-53. 2004.

WORLD DIABETES FOUNDATION. Disponível em:  
<<http://www.worddiabetesfoundaion.org>> Acesso em 11/04/2012

YLDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J.Agric. Food Chemistry*, v.49, p. 4083-4089. 2001

YOUUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Incorporation of elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, n. 1, v. 29, p. 51-60, 2000.

YUYAMA, L. K. O *et al.* Composição centesimal de diversas populações de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Estação Experimental do Instituto Nacional de Investigações do Amazonas, INPA. ANUAIS DO SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2, 1997, Campinas.

YUYAMA, L.K.O. *et al.* Conteúdos minerais em algumas populações de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal): dados preliminares. In: ANUAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 17, 1998, Rio de Janeiro.

YUYAMA, L. K. O. *et al.* Processamento e avaliação da farinha de cubiu em diferentes condições de armazenamento. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC INPA – CNPQ/FAPEAM, 19, 2010, Manaus, Brasil.

