

**“Estudo dos Pigmentos polares do Extrato das cascas dos
Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis* - *Cactaceae*)”**

RODRIGO DINIZ DE SOUZA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
ABRIL – 2013**

“Estudo dos Pigmentos polares do Extrato das cascas dos Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis* - *Cactaceae*)”

RODRIGO DINIZ DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal com ênfase em Química de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Barros de Oliveira

Coorientador: Rodrigo Rodrigues de Oliveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
ABRIL – 2013

“Estudo dos Pigmentos polares do Extrato das cascas dos Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis* - *Cactaceae*)”

RODRIGO DINIZ DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal com ênfase em Química de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Barros de Oliveira

Coorientador: Dr. Rodrigo Rodrigues de Oliveira

Aprovada em 26 de abril de 2013

Comissão examinadora:

Prof. Fábio da Costa Henry (D.S., Medicina Veterinária) UENF

Prof. Rodrigo Rodrigues de Oliveira (D.S., Química de Produtos Naturais) UENF

Prof^a. Michelle Frazão Muzitano (D.S., Química de Produtos Naturais) UFRJ

Prof^a. Daniela Barros de Oliveira (Orientadora) (D.S., Química de Produtos Naturais) UENF

A Deus e aos meus pais Ricardo Couto e Maria Luiza Diniz, ao meu irmão Fernando Diniz e com muito carinho a minha esposa Monique Abreu.

Querem que vos ensine o modo de chegar à ciência verdadeira? Aquilo que se sabe saber que se sabe; aquilo que não se sabe, saber que não se sabe; na verdade é este o saber.

Purifica o teu coração antes de permitires que o amor entre nele, pois até o mel mais doce azeda num recipiente sujo.

Bem-aventurados os limpos de coração, porque eles verão a Deus;

Bem-aventurados os que têm fome e sede de justiça, porque eles serão fartos.

Agradecimentos

Ao único que é digno de receber a honra e a glória, a força e o poder, ao Deus eterno imortal, invisível, mas real, a Ele agradeço de todo meu coração;

A UENF que me permitiu desenvolver aqui esse trabalho e pelo apoio financeiro;

Agradeço aos Professores Fábio da Costa Henry, Rodrigo Rodrigues de Oliveira, Michelle Frazão Muzitano por aceitarem fazer parte da banca avaliadora deste trabalho;

Agradeço à Professora Daniela Barros de Oliveira, por ter aceitado me orientar, por todo ensinamento, carinho, paciência, dedicação e por sempre acreditar que eu sou capaz, e me lembrar quando eu não acreditava. Você é muito especial;

Agradeço ao professor Rodrigo Rodrigues por ter aceitado participar deste trabalho mostrando-se sempre tão solícito todas as vezes que lhe procurei;

Agradeço a Camila de Oliveira Mansur pelas análises realizadas no RMN, nos laboratórios do LAMAR - NPPN/ UFRJ (Laboratório de Análises Multiusuários por RMN) e ao Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jones (Dept. de Bioquímica - UFRJ);

Aos meus pais Ricardo e Maria Luiza que sempre me incentivaram-me a realizar esse sonho e me fortaleceram-me nos momentos de aflição. Vocês me fizeram acreditar que sou capaz, se hoje estou me tornando Mestre é por vocês!

Ao meu irmão Fernando, por acreditar e torcer sempre por mim. Obrigado mesmo!

À Minha esposa Monique, que esteve comigo em todos os momentos dessa dissertação, sendo minha fortaleza nos momentos mais difíceis e minha maior incentivadora. Agradeço principalmente por sua paciência e amor que me davam-me forças para não desistir de lutar. Parte desse trabalho é seu também, amo você!

Às minhas amigas de laboratório Natalia, Clara, Lorena, Larissa e Lucy que são muito mais que parceiras de trabalho, tornando-se confidentes e cúmplices, quase irmãs. Vocês tornaram essa caminhada bem mais branda. Obrigado por toda ajuda, paciência, risadas e amizade. Vocês são mais que especiais pra mim!

Agradeço também aos amigos Isabela, Shalline, Mariana, Simone, João, Raphael, Geraldo, Priscila, Cristiane, Geferson, Francemir, Rener e Diana, pela ajuda nos experimentos, companheirismo e momentos de distração;

Gostaria de Agradecer a Andréia Delatorre, que se não fosse pelo incentivo eu não teria iniciado esse jornada. Muito Obrigado!

Agradeço também o pessoal do LCQUI a Keytilani, Lara, Diedo, Amaro, Adriana, Virginia, pois me receberam-me com muito carinho e me ajudaram-me muito. Muito obrigado!!!

À amiga Silvia, pelo carinho, conselhos, amizade, companheirismo, incentivo, preocupação e dedicação. Você é muito amada e tem lugar especial em meu coração. Que bom que você existe!

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIACÕES.....	xviii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 Alimentos Funcionais.....	4
3.2 Cactaceae.....	9
3.2.1 Propriedades biológicas de Cactaceae.....	13
3.2.2 Constituintes químicos.....	15

3.2.2.1 - Constituinte químico de outras espécies.....	15
3.2.2.2 – Constituinte químico gênero <i>Cereus</i> <i>fernambucensis</i> –manacaru.....	22
3.3 Flavonoides.....	23
3.2 Taninos e Fenóis totais.....	30
3.5 Radicais livres X Antioxidante.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1 Materiais, vidrarias, reagentes e equipamentos do Ensaio Fitoquímico.....	35
4.1.1 Regentes e Solventes.....	35
4.1.2 Equipamentos.....	36
4.1.3 Vidrarias e materiais.....	36
4.2 Coleta de Material Vegetal e Identificação Botânica.....	37
4.3 Parte Química: Aspectos Experimentais Gerais.....	37
4.3.1 Preparo do Extrato Aquoso e Frações.....	39
4.3.2 Preparo do Extrato Metanólico e Frações.....	41
4.3.3 Fracionamento, Isolamento e Identificação de Substâncias do Extrato Aquoso.....	41
4.4 Atividade Antioxidante.....	44
4.5 Avaliação e Dosagem do Teor de Taninos e Fenóis Totais.....	45
4.5.1 Método para Dosagem de Taninos Hidrolisáveis.....	45
4.5.2 Método para Dosagem de Taninos Condensados.....	45
4.5.3 Método para Determinação de Fenóis Totais.....	46
4.6 Avaliação e Dosagem do Teor de vitamina C.....	47
4.7 Avaliação e Dosagem do Teor de açúcar.....	47
4.8 Resumo das atividades desenvolvidas.....	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1 Substância isolada substância RD01.....	51
5.1.2. Elucidação Estrutural de RD 01.....	53
5.1.2.1 Técnicas monodimensionais.....	54
5.1.2.1.1 RMN 1H.....	54
5.1.2.2 Técnicas bidimensionais.....	60
5.1.2.2.1 RMN COSY.....	60
5.1.2.2.2 RMN	61

HSQC.....		
	5.2 Substância isolada substância	63
RD02.....		
	5.2.1 Elucidação Estrutural de RD 02.....	63
	5.2.1.1 Técnicas monodimensionais.....	63
	5.2.1.2 Técnicas bidimensionais.....	69
	5.1.2.2.1 RMN HSQC.....	69
	5.3 Ocorrência da aglicona isoramnetina na família Cactaceae.....	71
	5.4. Atividade Antioxidante.....	73
	5.5. Determinação do Teor de Tanino.....	79
	5.3.1. Determinação do Teor de Fenóis.....	81
	5.6. Avaliação do Teor de Açúcares.....	82
	5.7 Avaliação do Teor de Vitamina C.....	85
6. RESUMO E CONCLUSÕES.....		88
	6.1 Avaliação do Perfil Químico	89
	6.2 Avaliação da Atividade Antioxidante.....	89
	6.3 Avaliação do Teor de Taninos e Fenóis Totais	89
	6.4 Avaliação do Teor de Vitamina C.....	90
	6.5 Avaliação do Teor de Açúcares.....	90
7. BIBLIOGRÁFICAS.....	REFERÊNCIAS	91

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica da família Cactaceae.....	9
Figura 2: Riqueza dos gêneros (%) de Cactaceae ocorrentes no estado do Rio de Janeiro	10 13
Figura 3: Fruto e flor de manacaru.....	
Figura 4 Exemplo de uma cactácea, (<i>Cereus jamacaru</i>), e seu uso na medicina popular nos municípios de Queimadas, Santa Luz, São Domingos e Canudos.....	15 16
Figura 5: Estrutura química hordenina, a mescalina e alofoforina.....	16
Figura 6: Estrutura química oxalatos de cálcio, carbonatos de cálcio e dióxidos de silício.....	17 17
Figura 7 : Estrutura Química macromerina e epinefrina.....	
Figura 8: Estrutura química indicaxantina.....	18

Figura 9: Estrutura isoramnetina- 3-O-(6"-O- E-feruloil) neo esperidosideo, (6R) -9,10-di-hidróxi- 4,7-megastigmadieno-3-ona-9-O-B-D-gicopiranósido(2) e (6S) -9,10-di-hidróxi-4,7-megastigmadien-3- 1-9-O-B-D-glucopiranósido.....	19
Figura 10: Estrutura química dos flavonoides isolados: Kaempferol e isorhamnetin.....	20
Figura 11: Estrutura de flavonóides [flavonoides] e radicais detectados em <i>Opuntia ficus-indica</i>	21
Figura 12: estrutura química betanina, filocactina, <i>hilocerenina</i>	22
Figura 13: Estruturas químicas de betacianinas encontradas em <i>Hylocereus cactus</i>	23
.	23
Figura 14: Estrutura química de feniletilamínicos.....	24
Figura 15: Estrutura da betanidina 5-O-[(5"-O-E-feruloil)-2 '-O-B-D-apiofuranosil-6'-O-malonil]-B-D-glicopiranoside (5"-O-E-feruloil-2'-O-B-D-apiosil- philloactina) e alguns radicais.....	25 30 31 32
Figura 16: Estrutura básica dos flavonoides	40
Figura17: Biossíntese de flavonoides	
Figura 18: Estruturas de Taninos Hidrolisáveis: Galotanino e Elagitanino.....	41
Figura 19: Estrutura de tanino condensado Elagitanino.....	43
Figura 20 : Estrutura dos antioxidantes artificiais BHA e BHT.....	44
Figura 21: Esquema da obtenção do extrato aquoso e frações a partir da casca de <i>Cereus fernambucensis</i>	46
Figura 22: Esquema da obtenção do extrato metanolico e frações a partir da casca de <i>Cereus fernambucensis</i>	49
Figura 23: Esquema do fracionamento e purificação do extrato aquoso..	
Figura 24: Representação da reação do radical DPPH com um antioxidante (Flavonóide).....	50
Figura 25: Fluxograma representativo para a dosagem de taninos e fenóis totais, extrato aquoso e o extrato metanólico da casca do fruto do manacaru-	

<i>Cerus fermanbucensis</i>	51
Figura 26: Gráfico da área do pico X massa (em mg) injetada de glicose.....	
Figura 27: Gráfico da área do pico X massa (em µg) injetada de frutose	
Figura 28 : Resumo do extrato aquoso e metanolico.....	52
Figura 29: Cromatograma das substâncias isoladas(1=RD01, 2=RD02), realizado por CCD. Fase móvel: BAW (8:1:1) e revelado com sulfato cérico.....	52
Figura 30: Cromatograma, perfil químico da amostra RD01, avaliado por CLAE.....	53
Figura 31: Cromatograma, perfil químico da amostra RD01, avaliado por CLAE.....	53
Figura 32: Esquema do flavonoide e suas porções que geram as bandas de absorção características no UV.	54
Figura 33: Espectro de UV do pico de tempo de retenção (TR) igual a 16.46 min, correspondente à amostra isolada RD01.....	
Figura 34: Espectro de RMN 1H (499,77 MHz) de RD01 (DMSO- <i>d</i> 6).....	55
Figura 35: Expansão da faixa de δ12,95 a δ12,15 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	
Figura 36: Expansão da faixa de δ6,75 a δ5,70 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	55
Figura 37: Expansão da faixa de δ8,5a δ6,85 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	56
Espectro 38: Expansão da faixa de δ5,5 a δ2,3 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	57
Espectro 39: Expansão da faixa de δ4,49 a δ4,33 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	57
Figura 40: Expansão da faixa de δ7,9 a δ4,7 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.....	
Figura 41: Estrutura da isoramnetina-3-O-rubinosídeo (RD01) comparada com os dados da literatura.....	58
Figura 42: espectro RMN COSY para RD01.....	
Figura 43: Expansão da faixa de δ7,5 a δ6,0 ppm do espectro de RMN COSY e RD01.....	59

Figura 44:Espectro de RMN-2D HSQC para RD01.....	
Figura 45: Cromatogramas, perfil químico da amostra RD02, avaliado por CLAE nos comprimentos de onda 254nm e 350nm.....	60
Figura 46: Cromatogramas, perfil químico da amostra RD02, avaliado por CLAE nos comprimentos de onda 254nm e 350nm.....	61
Figura 47: Espectro de UV do pico de tempo de retenção (TR) igual a 16.45 min, correspondente à amostra isolada RD02.....	62
Figura 48: Espectro 1 de RMN 1H (499,77 MHz) de RD02 (DMSO- <i>d</i> 6)...	63
Figura 49: Expansão da faixa de δ 12,95 a δ 12,20 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.....	
Figura 50: Expansão da faixa de δ 6,65 a δ 5,95 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.....	64
Figura 51: Expansão da faixa de δ 8,04 a δ 7,45 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.....	64
Figura 52: Expansão da faixa de δ 5,7 a δ 2,8 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.....	65
Figura 53: Estrutura da isoramnetina-3-O-raminosídeo (RD01) comparada com os dados da literatura.....	66
Figura 54: Espectro de RMN-2D HMQC para RD02.....	
Figura 55 : Esqueleto de uma isoramnetina.....	
Figura 56: Estrutura da isoramnetina-3-O-rubinosídeo.....	66
Figura 57: Estrutura Isoramnetina-3-O-raminosídeo.....	
Figura 58: Estrutura química da apigenina, mostrando o grupamento OH nos carbonos 5, 7 e 4'.....	67
Figura 59: Atividade antioxidante extrato, sobrenadante e frações, em comparação com o padrão de referência BHT (n=3).....	
Figura 60: Estrutura química da procianidina, um exemplo de tanino condensado.....	67
Figura 61: Cromatograma 1 perfil do padrão de glicose avaliado por CLAE.....	69
Figura 62: Cromatograma 2 , perfil do padrão de Frutose(mg/ml) analisado por CLAE.....	71
Figura 63: Cromatograma da polpa de <i>Cerus fermambucensis</i> – manacaru para avaliação de açúcares.....	72
	72

Figura 64: estrutura química do ácido ascórbico.....

73

LISTA DE TABELAS

Tabela1: Substância ativa, efeitos fisiológicos e principais fontes de alimentos funcionais.....	7
Tabela 2: Lista dos municípios do estado do Rio de Janeiro onde foram registradas ocorrências de <i>Cereus fernambucensis</i>	11
Tabela 3: Lista dos municípios do Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro em que foram registradas ocorrências das espécies de Cactaceae....	12
Tabela 4: Principais classes de flavonoides , descrição de suas características básicas e estrutura.....	27
Tabela 5: Sistema de gradiente utilizado para realização de CLAE.....	39
Tabela 6: Sistema de solventes utilizado na cromatografia em coluna aberta aplicado nas frações.....	42
Tabela 7: Dados de massa (em mg) injetada de glicose e as respectivas áreas obtidas.....	48
Tabela 8: Dados de massa (em mg) injetada de frutose e as respectivas áreas obtidas. A partir desta curva, as amostras serão quantificada quanto ao teor de frutose.....	49
Tabela 9: Comparação dos sinais de ^1H da amostra RD01 e os sinais da isoramnetina observados na literatura.....	58
Tabela 10: Comparação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ da amostra RD01 e os sinais da isoramnetina-3-O-rubinosidio observados na literatura.....	62
Tabela 11: Comparação dos sinais de ^1H da amostra RD02, RD01 com os sinais da isoramnetina observados na literatura.....	68
Tabela 12: Comparação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ da amostra RD02 e os sinais da isoramnetina observados na literatura.....	75
Tabela 13: Atividade antioxidante do extrato aquoso, da sua partição, do sobrenadante e do BHT.....	80
Tabela 14: Dados obtidos da análise do teor de taninos do extrato aquoso	

e metanólico da casca do fruto de manacaru.....	81
Tabela 15: Dados obtidos do teor de fenóis totais da amostra de <i>Cereus feramambucensis</i> – manacaru.....	84
Tabela 17: valores de glicose e frutose obtido a partir da casca e da polpa do manacaru.....	86
TABELA 16: teor de vitamina c (mg / 100g) de casca ou polpa de <i>Cereus fernambucensis</i> – manacaru.....	

LISTA DE ABREVIações

CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
NO	Óxido Nítrico
SNP	Nitroprussiato de Sódio
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RL	Radicais Livres
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
NOS	Óxido Nítrico Sintase
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzida
RP-2	Fase inversa com dois átomos de carbono
AA	Atividade Antioxidante
AT	Análise de Taninos
FT	Fenóis Totais
DPPH	1,1-difenil-2-picrilidrazila
PBS	Solução Salina Tamponada de Fosfato

RF	Fatores de Referência
TR	Tempo de Retenção
DMSO-d6	Dimetil sulfoxido deuterado
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy

RESUMO

DINIZ, R.S. MSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2013. Estudo dos Pigmentos polares do Extrato da casca dos Frutos de Manacaru (*Cereus fernambucensis* - *Cactaceae*). Professora Orientadora: Daniela Barros de Oliveira, D.Sc. Co-Orientador: D.Sc.; Rodrigo Rodrigues de Oliveira. Banca Avaliadora: D.Sc.; Fábio da Costa Henry, D.Sc.; Rodrigo Rodrigues de Oliveira, D.Sc.; Michelli Frazão Muzitano.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), em conjunto com o Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI) do Centro de Ciências e Tecnologias (CCT), na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ. O objetivo deste trabalho foi isolar e identificar as substâncias ativas presentes nos frutos de *Cereus fernambucensis* - manacaru, desta forma, ampliar o conhecimento químico acerca do fruto de *Cereus fernambucensis*, para a possível utilização do

mesmo como alimento funcional, além de avaliar o perfil químico do extrato aquoso e metanólico por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Avaliar atividade antioxidante dos extratos e frações a partir das cascas dos frutos, como também, determinar os teores de taninos e fenóis totais do extrato. Determinar os Teores de Vitamina C das cascas e da polpa dos frutos, verificar o teor de açúcares presentes nas cascas e na polpa dos frutos. Isolar e identificar os compostos ativos presentes nos frutos através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Para a obtenção do extrato bruto, as cascas dos frutos de *Cereus fernambucensis* foram separadas das sementes e submetidas à liofilização, posteriormente foram feitos dois extratos, um aquoso e outro metanólico, o aquoso por liquidificação com água 10% p/v e o metanólico por extração exaustiva (maceração estática) com metanol. A partir das purificações do extrato aquoso duas substâncias isoladas RD01 e RD02. O extrato aquoso e suas frações foram avaliados a Atividade Antioxidante (AA) por DPPH, onde em uma escala de capacidade de sequestro de radicais livres, a sequência seria: FB> SM> EMA> FAcet.Et.> FH. Para as análises de taninos e fenóis totais a partir dos extratos aquoso e metanólico, não foram detectados os taninos hidrolisáveis no extrato, já para os fenóis totais baixas concentrações nas duas amostras foram verificadas, ou seja, a capacidade antioxidante dos extratos não está relacionada a esses fatores somente. Para concentração de Vitamina C das cascas e da Polpa dos frutos de manacaru feito por titulação, observa-se uma concentração significativa em comparação com outros membros de Cactaceae: 178mg/100g de vitamina C para cascas, e 22,94mg/100g de vitamina C para polpa. Para avaliação do teor de açúcar na polpa e nas cascas dos frutos, feito por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), e através de uma curva padrão foi possível quantificar glicose e frutose: para polpa 33,96g/100g de glicose e 35,91g/100g de frutose e para as cascas 11,57g/100g de glicose e 12,7g/100g de frutose. Sendo assim, este trabalho permitiu conhecer quimicamente as cascas dos frutos de *Cereus fernambucensis* – manacaru. Até [Até] o momento este grupo de trabalho em que esta dissertação foi desenvolvida, é o único a dedicar-se a esta espécie, sendo assim um dos poucos a avaliar sua atividade antioxidante e a única espécie de seu gênero a ter seu teor de açúcar, vitamina C e Taninos condensados e Fenóis Totais a serem quantificados. Tal fato contribui para a

compreensão científica do seu uso popular e um possível uso como alimento funcional.

ABSTRACT

DINIZ, R.S. MSc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; abril 2013. Study of Pigments polar bark extract of fruits Manacaru (*Cereus fernambucensis* - Cactaceae). Teacher Advisor: Daniela Barros de Oliveira, D.Sc. Co-Advisor: D.Sc.; Rodrigo Rodrigues de Oliveira. Banking Appraiser: D.Sc.; Fábio Costa Henry, D.Sc.; Rodrigo Rodrigues de Oliveira, D.Sc.; Michelli Frazão Muzitano.

This work was performed at the Laboratory of Food Technology at the Center for Agricultural Science and Technology, in conjunction with the Chemistry Laboratory of the Center for Science and Technology at the State University of North Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ. The objective of this work is to isolate and to identify the active substances in the fruits of *Cereus fernambucensis* - manacaru thus broaden knowledge about the chemical result of *Cereus fernambucensis* to the possible use of it as a functional food, to evaluate the chemical profile of the aqueous extracts and

methanolic by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), to evaluate the antioxidant activity of extracts and fractions from fruit rind, to determine the levels of tannins and phenolic extracts, to determine Levels of Vitamin C of the peel and pulp fruit, to determine sugar content in the peel and pulp fruit, to isolate and to identify the active compounds in fruits by chromatographic and spectroscopic techniques. To obtain a crude extract, the peel of fruits of *Cereus fernambucensis* seeds were separated and subjected to lyophilization. Later two extracts were made, one was aqueous, by the static precipitation and the other was methanolic, by exhaustive extraction (static maceration) with methanol. From the extracts purification were obtained for the aqueous extract two isolated substances RD01 and RD02. Through the aqueous extract and its fractions were made Antioxidant Activity by DPPH, where on a scale capacity of scavenging free radicals, the sequence would be: FB> SM> EMA> FAcet.Et.> FH. From analyzes of total phenols and tannins of aqueous and methanolic hydrolysable tannins were not detected for the aqueous extract, although total phenols have low concentrations in both samples, in other words, the antioxidant capacity of the extracts are not related to these factors only . For Vitamin C concentration of the peel and pulp manacaru fruits done by titulation it was obtained a significant concentration for cactaceae of 178mg/100g of peel vitamin C and 22.94 mg/100g of pulp Vitamin C. To evaluate sugar content found in the pulp and peel fruits, made by high performance liquid chromatography, and through a standard curve it was possible to quantify such sugar: to the pulp 33.96 g/100g glucose and 35.91 g/100g fructose and for peels 11.57 g/100g glucose and 12.7g/100g fructose. Therefore, this study identified chemically fruits peels of *Cereus fernambucensis* - manacaru, being one of the few to evaluate its antioxidant activity and the only of its kind to have its sugar content, vitamin C and condensed tannins and total phenols to be quantified, this fact contributes to the scientific understanding of its popular use and possible use as functional food.

1 - INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como fonte de alimentos e produtos terapêuticos, vem ao longo da história, haja vista que grande parte dos fármacos são de origem vegetal (Campos, 2008). A presença de substâncias antioxidantes tem sido detectada em larga escala a partir dos frutos e outras partes dos vegetais, e essa atividade tem sido bem comprovada nos últimos anos, tendo como exemplo, os compostos fenólicos, que contribuem para os efeitos benéficos nos alimentos (Ligia et al., 2010; Broinizi et al., 2007; Ajaikumar et al., 2005).

O conhecimento adquirido sobre o uso dos recursos vegetais nos mostra, que as plantas foram os primeiros recursos terapêuticos utilizados pelo homem (Maciel et al., 2002). Viegas Junior et al., (2006) vêm confirmar isso com estudos a partir das civilizações egípcia, greco-romana e chinesa, que são ricas em exemplos de utilização dos recursos naturais. Assim, fica claro que o reino vegetal é responsável pela maior contribuição em substâncias úteis ao tratamento de doenças que ocorrem em seres humanos (Gary et al., 2012; Phillipson & Anderson; 1989).

Proliferam na literatura, vários exemplos de espécies vegetais que são utilizadas na medicina popular, como a hortelã – *Mentha viridis*, erva de São Roberto – *Garamium robertianum* e erva cidreira – *Melissa officinalis*, avenca – *Adiantum capillus-veneris* e dentre estas, também se pode citar membros da família Cactaceae, como: *Pereskia aculeata* – trepadeira-irmão, *Epiphyllum phyllanthus* - pitainha, *Rhipsalis lindbergiana* – cacto macarrão, *Rhipsalis*

floccosa – mandacaru do norte, *Lepismium cruciforme* - Cacto-rabo-de-rato, *Rhipsalis teres* - rabo-de-rato, *Opuntia monacantha* - arrumbeva.

A espécie *Cereus fernambucensis*, (Cactaceae), conhecida popularmente como manacaru, é largamente encontrada nas praias do complexo lagunar Grussaí-Iquiparí em Campos dos Goytacazes – RJ (Assumpção, 2000). Considerada como planta nativa da região de Campos dos Goytacazes, o manacaru é conhecido popularmente pelo sabor adocicado do seu fruto. É utilizado na medicina popular contra o vitiligo, que é uma doença autoimune caracterizada por zonas de despigmentação da pele, e além deste, também é usado na eliminação de cálculos renais (Oliveira et al., 2009).

Estudos sobre a composição química e a digestibilidade do manacaru foram realizados por Araújo (2004); no entanto, poucos são os estudos encontrados na literatura sobre os frutos desta planta, que apesar de serem encontrados em grandes quantidades de fevereiro a setembro, não são explorados comercialmente, ocorrendo seu desperdício ou, então, sendo utilizados, quando muito, na elaboração de doces e geleias .

Relacionadas aos frutos da espécie *Cereus fernambucensis* (polpa e casca), raras são as pesquisas (Web of Science e Science Direct, 1980 a 2013). Dessa forma, o enfoque principal deste estudo está baseado na avaliação do perfil químico do extrato a partir das cascas dos frutos, do isolamento e da identificação de substâncias, e na avaliação da atividade antioxidante dos extratos aquoso e metanólico.

Além de uma contribuição no que se refere à ampliação do conhecimento químico da espécie buscou-se o conhecimento de algumas características físicas e físico-químicas de frutos que são indispensáveis para a determinação do estágio de amadurecimento mais adequado para a colheita desses produtos (Awad, 1993), este fato certamente propiciará uma maior comercialização dos frutos de manacaru.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é isolar substâncias presentes em extratos polares dos frutos de *Cereus fernambucensis* (manacaru – Cactaceae), para a possível utilização do mesmo como alimento funcional.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o perfil químico dos extratos aquoso e metanólico por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Avaliar atividade antioxidante dos extratos e frações a partir da casca dos frutos;
- Determinar os teores de taninos e fenóis totais do extrato aquoso;
- Determinar os teores de Vitamina C da casca e da polpa do fruto;
- Determinar os teores de açúcares presente na casca e na polpa do fruto;
- Isolar e identificar os compostos ativos presentes nos frutos através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas.

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - Alimento Funcional:

A utilização de fontes vegetais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de grande aceitação pela população e vem crescendo junto à comunidade médica, desde que sejam utilizadas espécies vegetais cujas atividades biológicas tenham sido investigadas cientificamente, comprovando sua eficácia e segurança (Bañuelos et al., 2012; Kinghorn, et al. 2001).

Estima-se que 25% de todos os medicamentos modernos são derivados diretos ou indiretos de plantas medicinais, nos países em desenvolvimento esta taxa alcança 80%. Em alguns casos, com a terapia antitumoral e antimicrobiana, 60% dos medicamentos disponíveis no mercado, e a maioria dos que se encontram nas últimas fases de ensaios clínicos, são provenientes de plantas superiores (Guevara-Figueroa et al., 2010; Coqueiro, 2006).

Os alimentos funcionais fazem parte de uma nova concepção de alimentos, e foram lançados pelo Japão na década de 80 através de um programa de governo. O objetivo deste programa era desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (Colli,1998).

Todavia , alguns parâmetros devem ser levados em conta em relação aos alimentos funcionais. Para Borges (2001), eles devem exercer um efeito metabólico ou fisiológico que contribua para a saúde física e para a redução do

risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Nesse sentido, devem fazer parte da alimentação usual e proporcionar efeitos positivos, obtidos em concentração não tóxica e que exerçam tais efeitos mesmo após a suspensão da ingestão, e que não se destinem a tratar ou curar doenças, estando seu papel ligado à redução do risco de contrair doenças.

Os alimentos funcionais são aqueles que de certa forma melhoram alguma função fisiológica do organismo (Diplock et al., 1999). O mercado está otimista em relação aos alimentos funcionais, haja vista o seu crescimento. O desenvolvimento e comercialização dos alimentos funcionais pode ser, no entanto, desafiador em comparação com os alimentos que convencionalmente têm uma imagem de saúde. Alimentos convencionais são ditos 'saudáveis', esses alimentos são tipicamente apresentados de uma forma que contribuem para uma dieta saudável, por exemplo, baixo teor de gordura ou produtos ricos em fibras. Em alimentos funcionais, as substâncias são diretamente ligadas aos efeitos fisiológicos e aos benefícios para a saúde (Bañuelos, et al. 2012; Nina & Liisa, 2004)

Segundo a *International Food Information Council Foundation* (IFIC, 2006), alguns exemplos de alimentos funcionais são: frutas, hortaliças, grãos, alimentos fortificados e também alguns suplementos alimentares. Os alimentos funcionais vêm sendo produzidos para que, possam regular algumas funções do organismo humano, bem como a proteção contra algumas doenças. (Anjo, 2004).

O termo nutracêutico define uma ampla variedade de alimentos e componentes alimentícios com apelos médico ou de saúde. Sua ação varia do suprimento de minerais e vitaminas essenciais até a proteção contra várias doenças infecciosas (Hungenholtz & Smid, 2002). Tais produtos podem abranger nutrientes isolados, suplementos dietéticos e dietas para alimentos geneticamente planejados, alimentos funcionais, produtos herbais e alimentos processados, tais como, cereais, sopas e bebidas (Bañuelos e Lin, 2010; Kwak e Jukes, 2001).

A diferenciação entre alimentos funcionais e nutracêuticos justifica-se devido ao pouco conhecimento destes conceitos pela população, bem como da relação entre dieta e saúde. Dispondo de maiores informações, tanto sobre o efeito benéfico de determinados alimentos, como os maléficados causados pela

exposição a inúmeras substâncias inerentes à vida moderna, as pessoas poderão conferir maior importância aos alimentos, contendo substâncias benéficas à saúde. A informação contribui para uma maior aceitação dos alimentos funcionais, diferenciando-os dos nutracêuticos, os quais envolvem todos os tipos de alimentos que possuem algum efeito médico e de saúde (Bañuelos, et al., 2010; Moraes 2006).

A utilização de recursos vegetais como fonte de alimentos que trazem benefícios à saúde acompanha a história da humanidade e, apesar do enorme desenvolvimento da síntese química e grande potencial na biodiversidade brasileira, são poucos os grupos trabalhando na área de caracterização de pigmentos, que fazem parte do metabolismo das plantas, a partir de frutos no país (Campos, 2008).

Em alguns povos a pouca proliferação de doenças chamou a atenção para a sua dieta, como por exemplo, os esquimós, com sua alimentação rica em ômega 3 e 6 por causa do alto consumo de peixes e frutos do mar, têm pouca incidência de problemas cardíacos, bem como os franceses consumidores de vinho tinto, já os chineses devido ao alto consumo de soja que possuem fitoestrogênios, estes possuem poucos casos de câncer de mama. Atribuído a uma alimentação diferenciada, esses países são grande consumidores de frutas e verduras, que também resulta em uma redução do risco de doenças coronarianas e de câncer, comprovada por dados epidemiológicos (Bernardes, 2010, Valente et al ., 2010).

Na década de 80, o consumo de frutas e hortaliças foi estimulado em âmbito global (Singh et al., 2003), por oferecerem efeitos metabólicos ou fisiológicos no organismo humano, além da atividade antioxidante. Relacionado a toda essa proteção pode-se considerar responsáveis por tal, alguns pigmentos como os carotenóides, os flavonóides e além destes, as vitaminas antioxidantes, os terpenóides, os esteróides entre outros como pode ser observado na tabela 1 (Bernardes, 2010).

Os alimentos vegetais são fontes conhecidas de vitaminas, tais como a vitamina C e o ácido fólico, carotenóides e fibras, e são naturalmente livres de gordura saturada e colesterol (Brat, George Bellamy, Du Chauffaut, Scalbert, & Mennen, 2006). Além disso, esses alimentos contêm concentrações significativas de polifenóis, que são antioxidantes (Manach, et al. 2004). O alto

consumo de frutos está associado a uma incidência baixa de doenças degenerativas, incluindo câncer, doenças cardíacas, inflamação, artrite, do declínio do sistema imunológico, disfunção cerebral, e catarata (Iris et al., 2011; Shahidi, 2004; Di Matteo & Esposito, 2003; Kris-Etherton et al., 2002).

Compostos Ativos	Efeitos	Fontes
Carotenoides	Atividade antioxidante e anticancerígena (útero, próstata, seio, cólon, reto e pulmão).	Frutas (melancia, mamão, melão, damasco, pêsego), verduras (cenoura, espinafre, abóbora, brócolis, tomate, inhame, nabo).
Fitoesteróis	Redução dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol.	Óleos vegetais, sementes, nozes, algumas frutas e vegetais.
Glucosinolatos	Detoxificação do fígado, atividade anticancerígena e antimutagênica.	Brócolis, couve-flor, repolho, rabanete, palmito e alcaparra.
Ácido fenólico	Atividade antioxidante.	Frutas (uva, morango, frutas cítricas), vegetais (brócolis, repolho, cenoura, berinjela, salsa, pimenta, tomate, agrião), chá.
Flavonoides	Atividades antioxidante, redução do risco de câncer e de doença cardiovascular.	Frutas cítricas, brócolis, couve, tomate, berinjela, soja, abóbora, salsa, nozes, cereja.
Isoflavonas	Inibição do acúmulo de estrogênio, redução das enzimas carcinogênicas.	Leguminosas (principalmente soja), legumes.
Catequinas	Atividade antioxidante, redução do risco de doença cardiovascular.	Uva, vinho tinto, morango, chá verde, chá preto, cacau.
Antocianinas	Atividade antioxidante, proteção contra mutagênese.	Frutas (amora, framboesa).

Omega3 e Omega6	Redução do risco de câncer e de doenças cardiovasculares, redução da pressão arterial.	Peixes de água fria, óleo de canola, linhaça e nozes.
Oligossacarídeos Polissacarídeos	Redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol	Frutas, verduras, leguminosas, cereais, integrais.
Prebióticos	Regulação do trânsito intestinal e da pressão arterial, redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, redução da intolerância à lactose.	Raiz de chicória, cebola, alho, tomate, aspargo, alcachofra, banana, cevada, cerveja, centeio, aveia, trigo, mel.
Probióticos	Regulação do trânsito intestinal, redução do risco de câncer e dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, estímulo ao sistema imunológico	logurte, leite fermentado

Tabela1: Substância ativa, efeitos fisiológicos e principais fontes de alimentos funcionais (Adaptado de Hutchenson, 1987)

Algumas espécies da família Cactaceae (*Opuntia ficus indica* Cactus pear, *Opuntia monacantha* Haw, *O. albi-carpa*, *O. streptacantha*), são utilizadas como alimentos, embora a produção seja ainda emergente no país, concentrando-se em São Paulo, na região de Valinhos, e, de forma incipiente, nos estados de Pernambuco e Paraíba. Do total produzido em São Paulo, apenas uma pequena parte é destinada ao mercado interno, enquanto a maior parcela é exportada para a Europa e Estados Unidos, onde existe o hábito de consumo destes frutos, considerados exóticos (Bañuelos et al 2012; Yahia et al., 2011; Glass, 2005; Souza, 2005; García & Valdez, 2003).

A valorização dos frutos no mercado internacional abre perspectivas para as variedades locais, ainda não reconhecidas como frutícolas, tampouco apreciadas pela população urbana, face ao desconhecimento de suas potencialidades (Alves, et al. 2008)

3.2 - Cactaceae

A família da Cactaceae está adaptada às condições de intenso xerofitismo que são os vegetais que desenvolvem uma estrutura especial para se adaptar a condições extremas, e caracterizam a paisagem vegetal das regiões mais secas da América Intertropical. As espécies desta família são plantas suculentas com talos carnosos, roliços ou aplanados. Algumas variedades sem espinhos são usadas como forragem, e os frutos de algumas espécies constituem um agradável alimento (Silva, et al., 2009; Gola, 1965).

O Nordeste brasileiro destaca-se como um grande produtor de frutos tropicais nativos e cultivados, em virtude de suas condições climáticas. A fruticultura, nesta região, constitui-se em atividade econômica bastante promissora, devido ao sabor e aroma exótico de seus frutos e à sua enorme diversificação (Almeida et al., 2011).

A Caatinga no Brasil está diretamente ligada à Cactaceae, os estudos detalhados revelam que o endemismo e a distribuição indicam que a diferença encontrada nos campos rupestres é comparável àquela encontrada na caatinga (Taylor e Zappi, 2004). A distribuição da família Cactaceae está essencialmente nas Américas, conforme a figura 1.

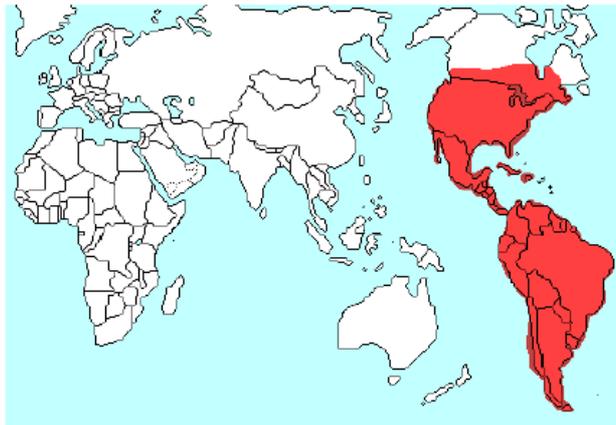


Figura 1: Distribuição geográfica da família Cactaceae (Fonte: Davet, 2005)

A biodiversidade e o endemismo acompanhado da diversidade e a conservação da mata atlântica têm especial importância por ser este um bioma prioritário em termos de amparo em nível global (Mittermeier *et al.*, 2000). O Rio de Janeiro destaca-se dentro deste conjunto, considerado um dos maiores

centros de endemismo do Brasil, e em razão da exorbitante riqueza de grupos da flora e fauna que se encontram nesta região é importantíssimo ser preservada (Rocha *et al.*, 2003).

Assim, no estado do Rio de Janeiro, encontra-se uma diversidade significativa de espécies (45) subordinadas a 13 gêneros de Cactaceae. Como mostra a Figura 2, se destaca o gênero *Rhipsalis* como o mais representativo com 23 espécies (53% do total de espécies), seguido dos gêneros *Schlumbergera* com cinco (13%), *Lepismium* e *Pilosocereus* com três cada (6%), *Hatiora* e *Pereskia* com duas cada (4%) e, por fim, *Brasiliopuntia*, *Cereus*, *Coleocephalocereus*, *Epiphyllum*, *Melocactus*, *Hylocereus* e *Opuntia* que contribuem com cerca de 2 % (Calvente *et al.*, 2005).

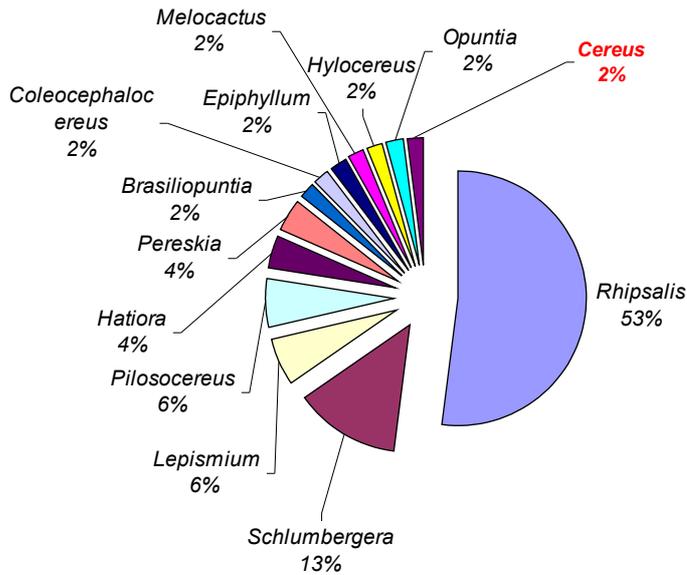


Figura 2: Riqueza dos gêneros (%) de Cactaceae ocorrentes no estado do Rio de Janeiro (Fonte: Calvente *et al.*, 2005)

As espécies do gênero *Cereus* ocorrem desde a costa até o interior do nordeste, sendo encontradas na Bahia, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Sergipe, do nível do mar às altitudes, e já foram localizadas em outros estados, até em áreas úmidas, como Santa Catarina em São Paulo, e na região litorânea do Rio de Janeiro (Scheinvar, 1985).

Neste trabalho, a espécie escolhida para estudo foi *Cereus fernambucensis* (figura 3), conhecida popularmente como manacaru, é largamente encontrada em Restinga, floresta atlântica distribuída geograficamente em quase todo território nacional (RN, PB, PE, AL, SE, BA, MG, ES e RJ). No Rio de Janeiro este cacto está localizado de acordo com a divisão dos seguintes blocos: Norte Fluminense, Região dos Lagos, Região Metropolitana e Sul Fluminense (tabela 2), e mais especificamente nas praias do complexo lagunar Grussaí-Iquiparí em Campos dos Goytacazes – RJ. Considerada como planta nativa da região de Campos dos Goytacazes, o manacaru é conhecido popularmente pelo sabor adocicado do seu fruto. Mais especificamente, na região Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro

foram registradas 31 ocorrências distribuídas em 5 municípios (tabela 3).

Tabela 2: Lista dos municípios do estado do Rio de Janeiro em que foram registradas ocorrências de *Cereus fernambucensis* (adaptado de Calvente *et al.*, 2005).

BLOCO	MUNICÍPIO	
Norte Fluminense	Bom Jesus do Itabapoana	
	São João da Barra	
	Campos dos Goytacazes	
	Quissamã	
Região dos Lagos	Macaé	
	Rio das Ostras	
	Casimiro de Abreu	
	Araruama	
	Búzios	
	Cabo Frio	
	Arraial do Cabo	
	Saquarema	
	Metropolitano	Guapimirim
		Magé
Nova Iguaçu		
Itaguaí		
Rio de Janeiro		
Mangaratiba		
Maricá		
Sul Fluminense	Niterói	
	Angra dos Reis	
	Parati	

Tabela 3: Lista dos municípios do Norte Fluminense do Estado do Rio de Janeiro em que foram registradas ocorrências das espécies de Cactaceae (adaptado de Calvente *et al.*, 2005).

BLOCO	MUNICÍPIO	ESPÉCIE
Norte Fluminense	Bom Jesus do Itabapoana	Cereus fernambucensis,
	São João da Barra	<i>Pereskia aculeata,</i>
	Campos dos Goytacazes	<i>Epiphyllum phyllanthus,</i>
	Quissamã	<i>Rhipsalis lindbergiana,</i>
	Macaé	<i>Rhipsalis floccosa,</i> <i>Lepismium cruciforme,</i> <i>Rhipsalis teres,</i> <i>Opuntia monacantha,</i> <i>Pereskia grandifolia,</i> <i>Brasiliopuntia brasiliensis,</i> <i>Melocactus violaceus,</i> <i>Pilosocereus brasiliensis.</i>

Segundo Rocha & Agra (2002), o fruto do manacaru (Figura 3) é uma baga, ovoide, com aproximadamente 12 cm de comprimento, vermelho, carnoso, de polpa branca, com inúmeras sementes pretas e bem pequenas. O tamanho do fruto do manacaru varia de 10-13 x 5-9 cm, sendo ovoide, sucosa; epicarpis glabros, róseos a vermelho; polpa funicular, mucilagínosa, branca; sementes pretas variando de 1,5 – 2,5 mm de comprimento (Almeida, et al., 2011; Oliveira et al., 2009; Calvente et al., 2005; Leuenberger, 1991).





Figura 1. Frutos de Mandacaru provenientes do vale do Curu (Fortaleza, 2007).

Figura 3: Fruto e flor de manacaru - Fonte: **A:** <http://caricaturas.blogspot.com/2010/04/o-fruto-do-manacaru-por-ocorro.html>; **B:** <http://www.flickr.com/photos/36947023@N02/5147310658/>; **C:** <http://www.flickr.com/photos/36947023@N02/5147310658/>; **D:** Leirson, 2009

3.2.1 - Propriedades biológicas de Cactaceae

O uso de espécies da família Cactaceae na medicina popular é pouco difundido, as pesquisas relacionadas à mesma revelam, que as raízes e o caule são diuréticos e melhoram males do coração, já a planta em um todo é usada no combate ao escorbuto e nas infecções do aparelho respiratório - bronquites, tosse, catarro (Davet, 2009).

O *Cereus fernambucensis* especificamente é utilizado na medicina popular contra o vitiligo, que é uma doença autoimune caracterizada por zonas de despigmentação da pele, e além deste, também é usado na eliminação de cálculos renais. No entanto, pesquisas realizadas demonstram que esta espécie possui grande potencial antioxidante, além da inibição de NO por macrófago indicando também potencial anti-inflamatório (Oliveira et al., 2009).

Segundo Andrade et al. (2006), a espécie *Cereus jamacaru* (mandacaru-de-boi) é utilizada para processos inflamatórios ocasionados por diferentes agentes, conforme figura 4. Outro trabalho cita a “estrela” do mandacaru (*C. jamacaru*) como de grande utilidade para tratar doenças renais (Andrade et al., 2006). Agra et al., (1996) citam que em Cariris Velhos (PB), o uso etnomedicinal, tanto do infuso quanto do decocto, a partir das raízes de *C. Jamacaru*, ambos são benéficos para o tratamento de problemas renais, e o xarope para o tratamento de tosses, bronquites e úlceras.

De acordo com Tan et al. (2005), a *Pereskia bleo* (rosa madeira) é considerada uma espécie medicinal, com atividade anti-tumoral, anti-reumática, anti-úlceras e anti-inflamatória em algumas regiões da Malásia. Pesquisadores malaios avaliaram seu extrato metanólico, e observaram significativa atividade citotóxica sobre linhagens de células T-47D.

Costa et al. (2000), relatam que o extrato alcoólico de *Pilosocereus randifolia* (xique-xique) mostrou uma significativa ação analgésica. O extrato etanólico também foi avaliado farmacologicamente, e apresentou indícios de efeitos ansiolíticos, e estes dados foram confirmados por Pereira et al. (2005). Esses autores relatam que em doses de 50 e 100mg/kg do extrato metanólico foram capazes de provocar um efeito hipnótico sedativo.

Mota (1997) pesquisando dois grupos indígenas no Sergipe, detectou uma associação de espécie de *Cereus sp.* com algumas leguminosas, sob a forma de chás, para febres. Além do uso do caule “macerado” de *Cereus sp.* para problemas intestinais, febris e de constipação (“intestino preso”).

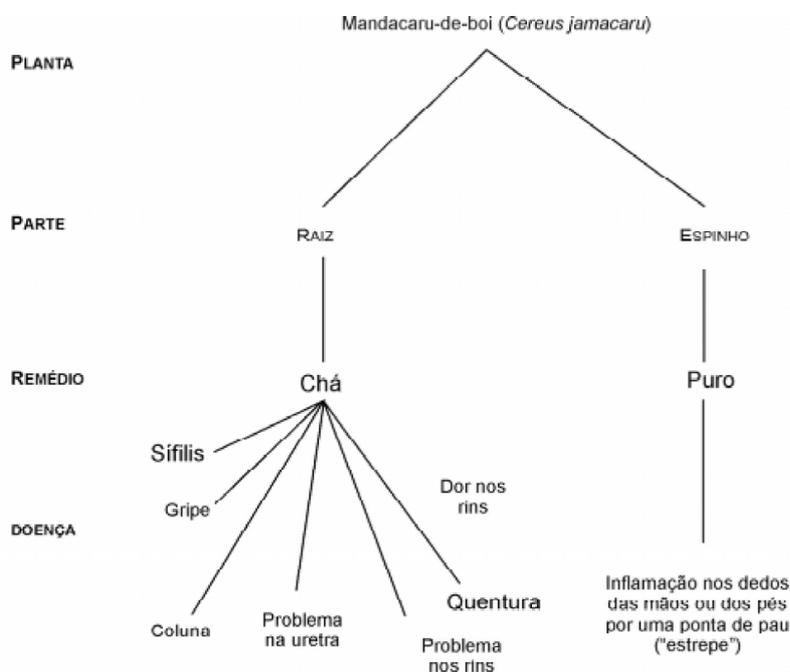


Figura 4 Exemplo de uma Cactaceae, (*Cereus jamacaru*), e seu uso na medicina popular nos municípios de Queimadas, Santa Luz, São Domingos e Canudos (Fonte: Andrade et al., 2006).

3.2.2 - Constituintes químicos

3.2.2.1 - Constituinte químico de outras espécies

Alguns estudos sobre a composição química e a digestibilidade *in vitro* do *C. jamacaru* - mandacaru (fonte forrageira) foram realizados por Araújo (2004), no entanto, poucos são os estudos encontrados na literatura sobre os frutos desta planta, apesar de serem encontrados em grandes quantidades de fevereiro a setembro.

As espécies de Cactaceae naturais e exóticas apresentam biocompostos ativos, Anderson (2001), por exemplo cita a presença de betalainas e pigmentos naturais nitrogenados, e também três substâncias verificadas com frequência para esta família: hordenina, mescalina e alofoforina, Figura 5. Segundo o mesmo autor, algumas espécies podem ter mais de 50 diferentes tipos de alcaloides; com esqueleto compatível para fenilaminas, além de triterpenos e diferentes minerais.

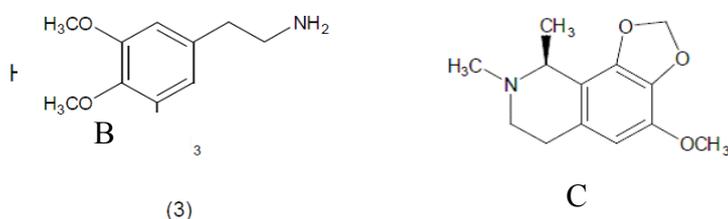


Figura 5: Estrutura química (A) hordenina, (B) mescalina, (C) alofoforina (Fonte : Davet, 2005).

Três tipos de biomineral são especialmente comuns e amplamente distribuídos nessas fontes vegetais: oxalatos de cálcio, carbonatos de cálcio e dióxidos de silício (Figura 6) (Monje e Baran, 2004). Algumas plantas superiores podem acumular concentrações significativas de material inorgânico e, isto é, comum para alguns membros da família Cactaceae (Monje e Baran, 2002). Por exemplo, em 1938 uma espécie de cacto (*Cactus senilis*) foi descrita como contendo cerca de 85% da sua massa seca constituída de oxalato de cálcio (Cheavin, 1938; Monje 2005;).





A



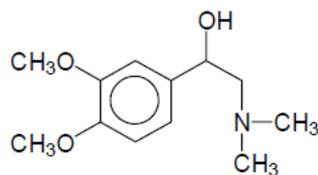
B



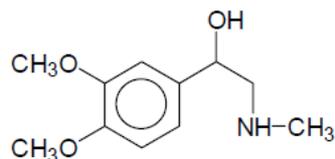
C

Figura 6: Estrutura química: (A) oxalatos de cálcio, (B) carbonatos de cálcio e (C) dióxidos de silício (Fonte: Monje, 2005).

A macromerina (Figura 7), isolada a partir da espécie vegetal *Coryphantha calipensis* (Cactaceae), possui estrutura muito semelhante à epinefrina, e ambas podem causar alucinações em animais (Davet, 2005).



A



B

Figura 7 : Estrutura química macromerina(A) e epinefrina(B) (Fonte: Davet, 2005)

A espécie *Opuntia ficus-indica* variedade saboten makino (Cactaceae) é amplamente usada em fabricação de alimentos, tais como, geleias, chás e sucos. Seus frutos e caules têm sido tradicionalmente utilizados na medicina popular, assim, o uso etnomedicinal desta espécie vegetal motivou os autores a investigarem seus metabólitos secundários, e dentre eles se destaca o isolamento do alcaloide, indicaxantina (Figura 8) (Park et al., 2007).

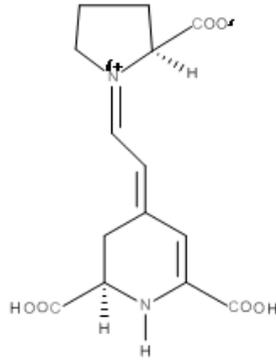
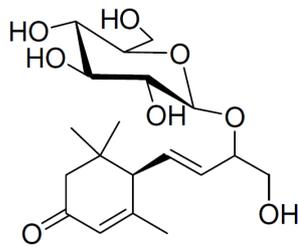
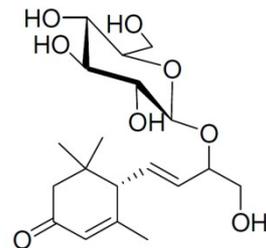


Figura 8: Estrutura química indicaxantina (*Fonte: Grotewold, 2006*)

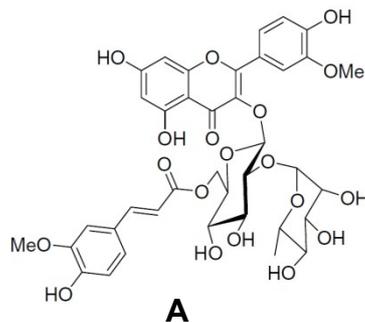
Saleem et al. (2006) descreveram o isolamento de isoramnetina- 3-O- (6''-O- E-feruloil) neo esperidosideo (6R) -9,10-di-hidróxi- 4,7-megastigmadieno-3-ona-9-O-B-D-gicopiranósido(2) e (6S) -9,10-di-hidróxi-4,7-megastigmadien-3-1-9-O-B-D-glucopiranósido a partir de extrato de *Opuntia ficus-indica* (Figura 9) (Khan et ai., 2005; Saleem et al. 2006).



B



C



A

Figura 9: Estrutura (A) isoramnetina- 3-O-(6"-O- E-feruloil) neo esperidosideo, (B) (6R) -9,10-di-hidróxi- 4,7-megastigmadieno-3-ona-9-O-B-D-glicopiranósido(2) e (C) (6S) -9,10-di-hidróxi-4,7-megastigmadien-3- 1-9-O-B-D-glucopiranósido (Fonte: Saleem et al. 2006)

A espécie *Opuntia monacantha* Haw. (Cactaceae) é nativa do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, e segundo Valente et al. (2010), em seus estudos sobre Cactaceae brasileira verificaram que os cladódios desta fonte vegetal possuem atividade antitumoral moderada, além de um baixo teor de alcaloides. O Kaempferol e a isoramnetina são exemplos de flavonoides largamente isolados a partir das flores e frutos de *Opuntia* spp, (Valente et al., 2010; Seyoum et al, 2006; Stintzing e Carle, 2005).

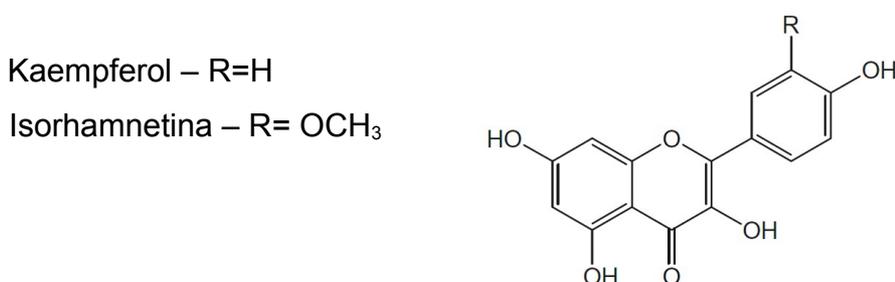
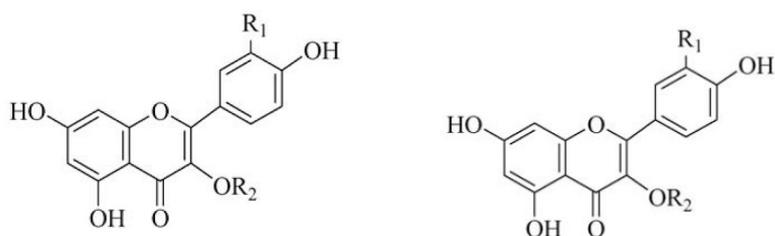


Figura 10: Estrutura química dos flavonoides isolados: kaempferol e isoramnetin (Fonte: Valente et al., 2010)

Estudos a partir das flores da espécie *Opuntia ficus-indica* revelam que alguns metabólitos secundários tais como flavonoides glicosilados foram isolados abundantemente a partir das cascas dos frutos, dentre eles estão : Quercetina 3-O-rutinosídeo , Kaempferol 3-O-rutinosídeo , Quercetina-3-O-glicosídeo, Isoramnetin 3-O-rubinobiosídeo , Isoramnetina 3-O-galactosídeo Isoramnetin 3-O-glicosídeo , Kaempferol 3-O-arabinosídeo (Figura 11), (Moussa-Ayoub 2011; Leo et al. 2010; Galati et al. 2002).



R₁=OH

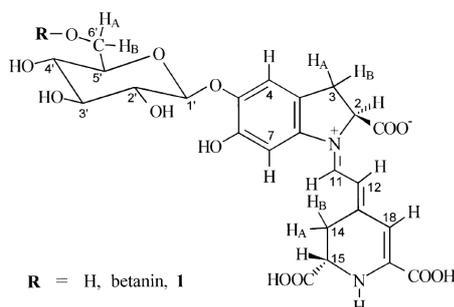
R₂= Rha(1-6)Glc

Quercetina 3-O-rutinosídeo

R ₁ =H	R ₂ =Rha(1-6)Glc	Kaempferol 3-O-rutinosideo
R ₁ =OH	R ₂ =Glc	Quercetina 3-O-glicosideo
R ₁ =OCH ₃	R ₂ =Rha(1-6)Gal	Isorhamnetina 3-O-robinobiosideo
R ₁ =OCH ₃	R ₂ =Gal	Isorhamnetina 3-O-galactosideo
R ₁ =OCH ₃	R ₂ =Glc	Isorhamnetina 3-O-glucosideo
R ₁ =H	R ₂ =Ara	Kaempferol 3-O-arabinosideo

Figura 11: Estrutura de flavonoides e radicais detectados em *Opuntia ficus-indica* (Fonte: De Leo et al., 2010).

Para a espécie *Hylocereus polyrhizus* foram isolados, as três principais betacianinas mais usuais na indústria de alimento (betanina, filocactina, hilocerenina) (Figura 12), Moussa-Ayoub et al. (2011) obtiveram 70 % de betacianinas em extrato metanolico, a partir da espécie *Opuntia macrorhiza* (Stintzing et al. 2004; Kobayashi et al.2000; Harborne, 1994; Strack e Wray, 1989).



R = H, betanina,

R = CO^{2''}CH₂COOH, filocactina,

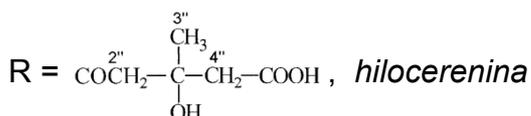
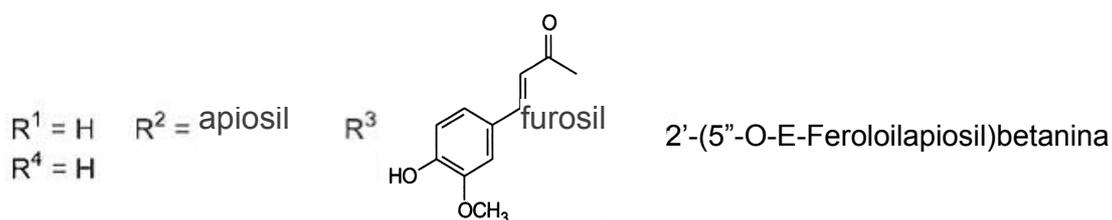
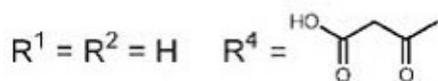
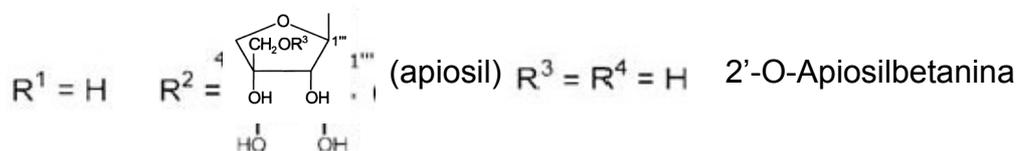
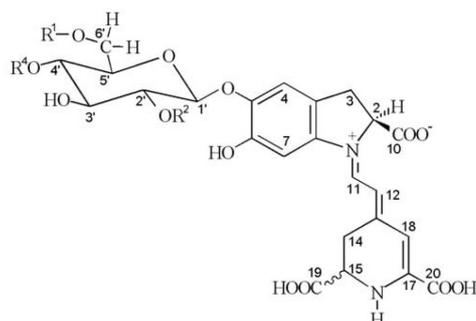


Figura 12: estrutura química betanina, filocactina, hilocerenina (Fonte: Wybraniec et al. 2001)

A análise de *Hylocereus ocamponis*, *Hylocereus undatus*, e *Hylocereus*

purpusii revelou perfis característicos de betacianina com presença mais abundante das betanina e filocactina hilocerenin, além disso, duas betaxantinas foram detectadas (c-aminobutírico-Bx, I e indicaxantina, II), que já foram mencionadas em frutos de *Opuntia ficus-indica* por Stintzing et al. (2002), bem como outros compostos (Figura 13) (Wybraniec et al. 2007).



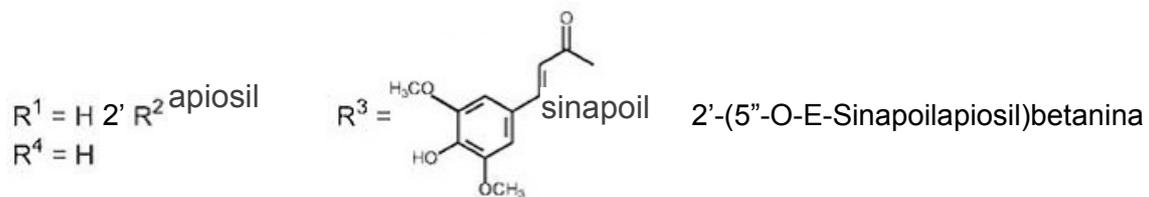
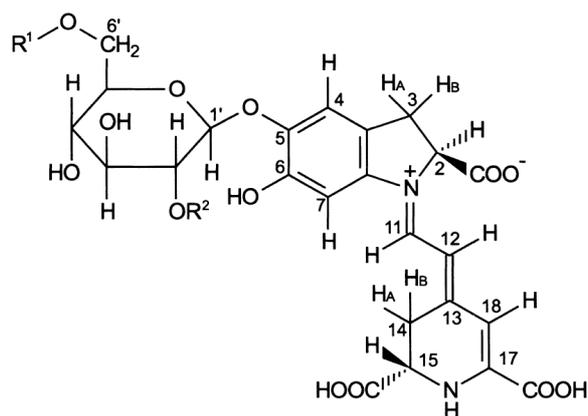


Figura 13: Estruturas químicas de betacianinas encontradas em *Hylocereus cactus* (Fonte: Wybraniec et al. 2007).

As espécies *Schlumbergera spec.*, *Phyllocactus*, *Zygocactus*; *Bachthaler*, revelaram a presença de várias betalainas, dentre elas se destaca a betanidina 5-O-[(5''-O-E-feruloil)-2' -O-B-D-apiofuranosil-6'-O-malonil]-B-D-glicopiranoside (5''-O-E-feruloil-2'-O-B-D-apiosil- philloactina) (Figura 14), cuja estrutura foi completamente elucidada por Wybraniec et al. (2007).



malonil

malonil

apiosil

apiosil

furosil

malonil

apiosil

furosil

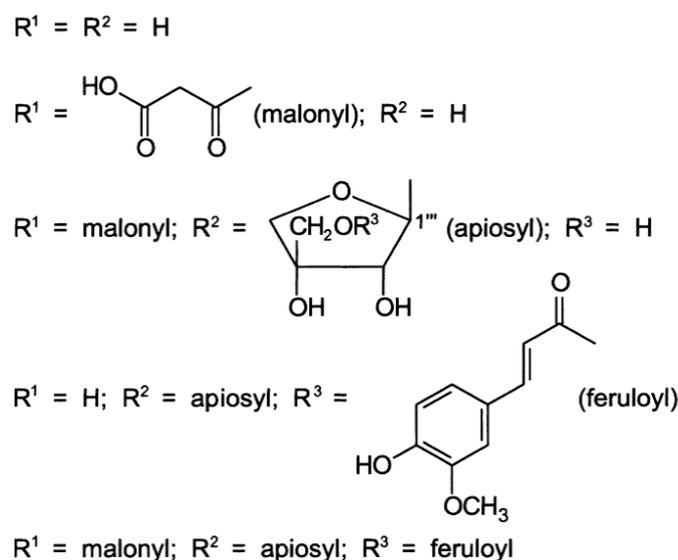


Figura 14: Estrutura da betanidina 5-O-[(5"-O-E-feruloil)-2'-O-B-D-apiofuranosil-6'-O-malonil]-B-D-glicopiranoside (5"-O-E-feruloil-2'-O-B-D-apiosil-phillocactina) e alguns radicais (Fonte: Stintzing et al.2004).

3.2.2.2 – Constituinte químico do gênero *Cereus*

A partir do gênero *Cereus* não foram detectados muitos relatos na literatura (Web of Science e Science Direct, 1980 a 2013).

Cereus fernambucensis, *Opuntia dilenii* e *Pilocereus arrabidaei* também apresentaram alcaloides feniletílicos (Davet 2005; Valente, 1998). Davet (2005) mostrou que os extratos destas espécies de cacto não apresentaram atividade antitumoral, como a danificação de DNA, e/ou a inibição das enzimas Topoisomerase I e II de *Saccharomyces cerevisiae*. Entretanto, o extrato de *P. arrabidaei* apresentou 75 % de inibição após 48 horas em teste *in vitro* para atividade tripanomicida.

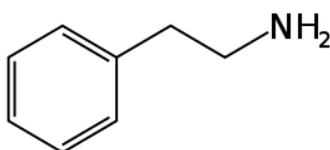


Figura 15: Estrutura química da feniletílicos

3.2.3 – Flavonoides

Os flavonoides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. Entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre sistemas biológicos. Conseqüentemente, muitas dessas propriedades atuam de forma benéfica para a saúde humana. Foram identificadas mais de quatro mil substâncias pertencentes ao grupo dos flavonoides (Peterson & Dwyer, 1998).

Os flavonoides foram identificados pela primeira vez em 1930, pelo Dr. Szent György. A partir da casca do limão, foi extraída a citrina, uma substância que possuía certa capacidade de regulação da permeabilidade dos capilares (Moussa-Ayoub et al., 2011; Campos, 2008).

Apesar do termo flavonoide derivar do latim flavus, que significa amarelo, observa-se que os grupos flavonóis e flavonas são incolores, e que a classe das antocianinas possui substâncias que variam no seu espectro de coloração do verde ao azul (José A. et al., 2010).

São constituintes essenciais, por conta da sua coloração e odor e fazem a comunicação do vegetal com o ambiente, atraindo agentes polinizadores. Tais substâncias, ainda são reguladoras semelhantes às vitaminas lipossolúveis, intervêm no metabolismo celular e agem juntamente com hormônios regulando o crescimento do vegetal. Na fosforização oxidativa possuem um papel importante, interferindo na transferência de que ocorre no cloroplasto e possuem um importante papel na fixação do nitrogênio (Meotti, 2006).

Os flavonoides desempenham diversas funções nas plantas tais como: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta (UV) e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atração de animais com finalidade de polinização, controle da ação de hormônios vegetais e inibidores de enzimas. (Queiroz, 2012; Campos, 2008; Huang, et al., 2007).

Apesar dos homens associarem saúde com alimentação rica em vegetais e até a utilização de ervas medicinais para tratamentos de algumas doenças, só recentemente suas propriedades bioquímicas e farmacológicas começaram a ser desvendadas, dentre elas destacam-se ações como o

sequestro de radicais livres (antioxidantes), anti-inflamatórias, anti-hepatóxica, antialérgica, antitumoral, antiparasitária, antimicrobiana, fungistática, antiviróticos (Huang, et al., 2007).

Os flavonoides são ácidos fracos e, como são compostos polares ou moderadamente polares, são solúveis em etanol, metanol e butanol e combinações de solventes com água. Podem sofrer degradação em meio alcalino na presença de oxigênio. Apresentam intensa absorção no UV, aproximadamente em 350 nm devido à presença de ligações duplas conjugadas com os anéis aromáticos (Harborne, 1994).

Os flavonoides (figura 16) possuem 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de dois anéis aromáticos (A e B) ligados por uma cadeia de três carbonos entre eles (anel C). São derivados das flavonas, e nas plantas são encontrados com uma variedade de formas estruturais arranjados na configuração C6- C3- C6, sendo biossintetizados a partir das vias do ácido chiquímico e do ácido acético. (Coutinho, et al., 2009; Cazarolli, et al. 2008; Pozzi, 2007).

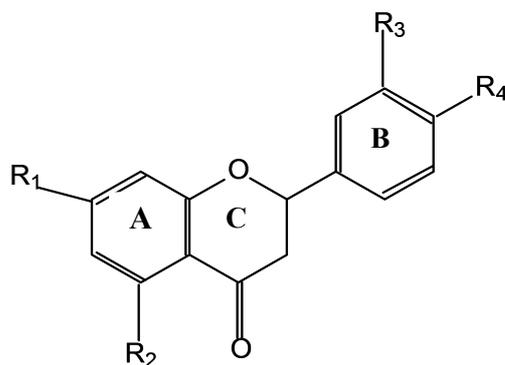


Figura 16: Estrutura básica dos flavonoides (*Fonte: Meotti, 2006*).

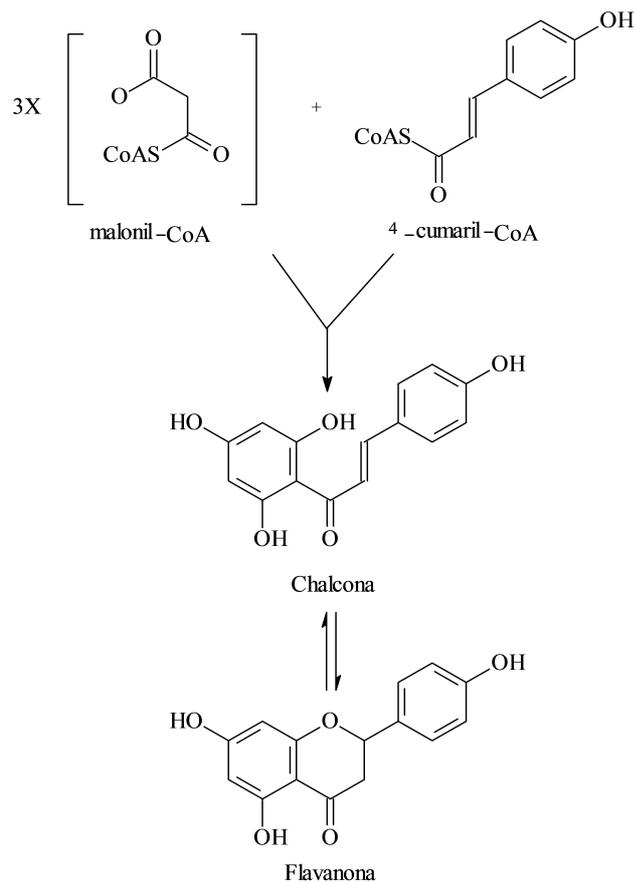


Figura17: Biossíntese de flavonoides (Fonte: Meotti 2006).

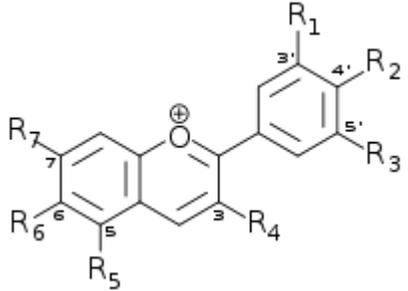
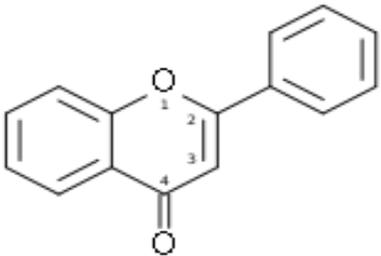
O esqueleto carbônico dos flavonoides resulta de rotas biossintéticas mistas (Figura 17): a do ácido chiquímico e a do acetato via ácido mevalônico (Harborne, 1994). A chalcona sintase é a enzima que cataliza a formação da chalcona intermediária básica C15, da qual todos os flavonoides são formados, pela condensação de três moléculas de malonil-CoA com uma molécula de 4-coumaroil-CoA, (C6-C3). O substrato éster da CoA do ácido cinâmico vem da fenilalanina. A fenilalanina amônio liase canaliza o esqueleto C6-C3 da fenilalanina via o ácido *trans*-cinâmico pelo metabolismo de fenilpropanoides. A introdução da função hidróxi na posição 4 do ácido *trans*-cinâmico é catalizada pela cinamato 4-hidroxilase, fornecendo o 4-coumarato. O ácido hidróxi-cinâmico é ativado para futuras reações, pela formação de um éster da CoA (4-coumaroil-CoA), substrato preferido pela chalcona sintase. O segundo substrato da chalcona sintase, o malonil-CoA, é sintetizado a partir da acetil-CoA e CO₂. Através de subseqüentes hidroxilações e reduções, os vegetais sintetizam as diferentes classes dos flavonoides (Ribani, 2006; Forkmann e

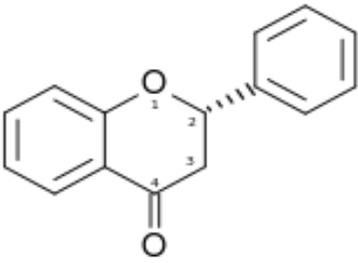
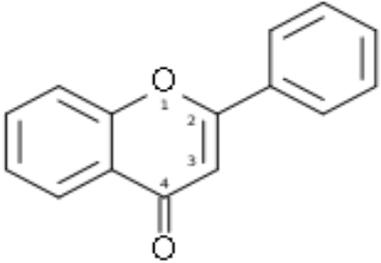
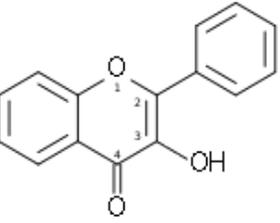
Martens, 2001).

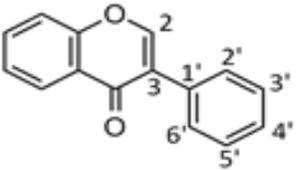
Podem ocorrer algumas modificações estruturais levando a apresentar propriedades distintas, embora estas substâncias compartilhem a mesma estrutura primária e, conseqüentemente, compartilhem algumas atividades biológicas (Meotti, 2006; Havsteen, 2002).

A diversidade estrutural dos flavonoides pode ser atribuída ao nível de oxidação e às variações no esqueleto carbônico básico, promovidas por reações de alquilação, glicosilação ou oligomerização. Os flavonoides podem ser encontrados como agliconas ou sob a forma de glicosídeos e/ou derivados metilados e/ou acilados. As modificações no anel central dessas substâncias levam à diferenciação em subclasses distintas, tais como: chalconas, flavanonas, flavanonóis, flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavan-3-ols e antocianidinas. As estruturas dos esqueletos básicos e as principais classes de flavonoides são mostradas na tabela 4 (Coutinho, et al., 2009; Veitch, et al., 2008; Simões, et al., 2004; Havsteen, 2002).

Tabela 4: Principais classes de flavonoides, descrição de suas características básicas e estrutura (Queiroz, 2012; Coutinho, et Al., 2009; Veitch, et al., 2008; Peterson & Dwyer, 1998)

Classes	Coloração	Exemplos	Comentários	Estrutura
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	Cianidina; Delfinidina; Peonidina.	Antocianinas estão predominantemente em frutas e flores e provavelmente foram os primeiros flavonóides a serem isolados. São provenientes de pigmentos florais, conforme indicam seus próprios nomes. São usadas como pigmentos naturais.	
Flavanas (mono, bi e triflavans)	Incolor	Catequina; Epicatequina Luteoforol; Procianidina. Teaflavina	Flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanas são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas como chás e água de coco. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à	

			presença das biflavanos.	
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido.	Hesperidina; Naringenina.	Flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.	
Flavonas	Amarelo pálido	Apigenina; Luteolina; Diosmetina; Tangeretina; Nobiletina	Flavonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas. Mas também em cereais, frutas, ervas e vegetais. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apigenina e a luteolina.	
Flavonóis	Amarelo pálido	Quercetina; Rutina; Miricetina; Kaempferol	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em vegetais e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.	

Isoflavonodes	Incolor	Daidzeína; Genisteína.	Isoflavonoides são encontrados quase que exclusivamente em legumes, particularmente na soja.	
---------------	---------	---------------------------	--	---

Os flavonoides podem contribuir para a qualidade das frutas de várias maneiras, por exemplo, com os atributos sensoriais como a coloração e o sabor. Também estão envolvidos na formação de pigmentos indesejáveis em frutas frescas após corte como resultado da oxidação enzimática dos fenólicos em quinonas que polimerizam formando produtos marrons (Bernardes et al., 2010; Ribani, 2006;).

São detectados em espécies vegetais principalmente na forma conjugada, como glicosídios, pelo menos 8 monossacarídeos diferentes ou combinações desses (di ou trissacarídeos) podem ligar-se aos diferentes grupos hidroxilas da aglicona, resultando no grande número de flavonoides conhecidos, cerca de mais de 4000 substâncias (Ross e Kasum, 2002; Harborne, 1994).

Os efeitos bioquímicos e farmacológicos dos flavonoides são muito vastos, e se estendem a outras substâncias aromáticas como os taninos e dos fenóis em geral (Huang, et al., 2007, Muzitano, et al., 2006).

3.2.4 - Taninos e Fenóis totais

Os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham molécula poli-hidroxifenóis ou seus derivados. Os pertencentes ao primeiro grupo são denominados taninos hidrolisáveis, que incluem os galotaninos e os elagitaninos, polímeros derivados dos ácidos gálico e elágico (figura 18) (Degáspari et al., 2004).

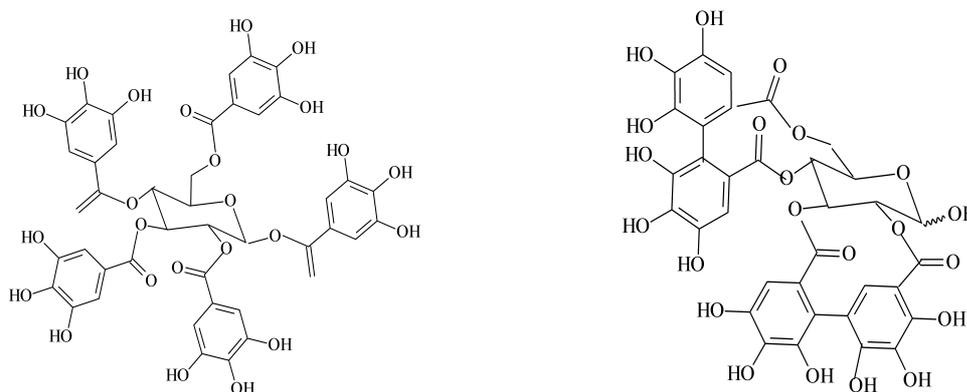


Figura 18: Estruturas de Taninos Hidrolisáveis: Galotanino e Elagitanino (Fonte: Degáspari et al., 2004).

O outro tipo é denominado de tanino condensado, e são encontrados em

maior proporção, e em maior importância em alimentos. Apresentam uma estrutura semelhante aos flavonoides, com coloração variando do vermelho ao marrom, conforme a figura 19. A presença em baixas concentrações de taninos em frutos confere-lhes características sensoriais desejáveis, ditas como “o corpo da fruta”. No entanto, concentrações mais elevadas conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes (Degáspari et al., 2004).

Os taninos possuem um forte poder antioxidante, podendo atuar no processo de estabilização de radicais livres (Paiva et al., 2002).

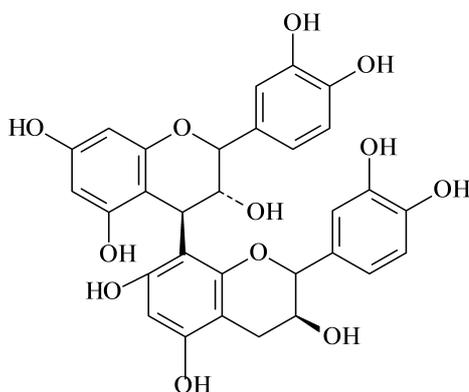


Figura 19: Estrutura de tanino condensado Elagitanino (Fonte: Degáspari et al., 2004).

3.3. - Radicais livres X Antioxidante

Os Radicais Livres (RL) são espécies que possuem em sua estrutura atômica um ou mais elétrons desemparelhados. Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas (Bernardes et al., 2010; Cerqueira *et al.*, 2007).

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar o processo de oxidação no meio em que estão inseridos. Os radicais livres podem ser neutralizados pelos antioxidantes naturais ou compartilhados indiretamente nos sistemas enzimáticos. Dentre os antioxidantes mais comuns estão a vitamina C, o ácido úrico, os carotenóides, os compostos fenólicos, as betalaínas, entre outros (Hassanbaglou et al., 2012; Reis et al., 2011).

Estes podem ser naturais ou artificiais, o primeiro grupo encontra-se principalmente em plantas na forma de compostos fenólicos (flavonoides, ácidos e álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis), ácido ascórbico e carotenoides. Para

o grupo dos antioxidantes artificiais podem ser citados butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) (figura 20) (Mariod, et al.; 2009; Ali, et al.; 2008; Fang e Liu, 2002).

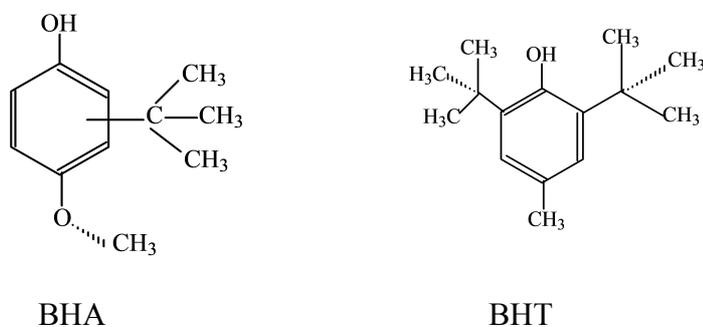


Figura 20 : Estrutura dos antioxidantes artificiais BHA e BHT (Fonte: Bernardes et al., 2010)

Os principais radicais livres observados são superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a hidroxila (OH^{\bullet}), o hidroperóxido (HO_2^{\bullet}), o óxido nítrico (NO^{\bullet}) e o dióxido de nitrogênio (NO_2^{\bullet}). Em meio aos dois primeiros o radical hidroxila é o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares, já o peróxido de hidrogênio por atravessar a membrana nuclear (Reis et al., 2011; Soares, 2002; Anderson, 2000).

A ação dos radicais livres provoca a oxidação nos sistemas biológicos, elas podem ser geradas por fontes endógenas, que se originam de processos biológicos que ocorrem no organismo, a partir das fontes exógenas como, o tabaco, a poluição do ar, os solventes orgânicos, os anestésicos, os pesticidas e as radiações (Iris et al., 2011; Soares, 2002).

Espécies reativas de oxigênio (EROS) são danosas e muito reativas quando produzidas *in vivo*, como ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio. Estes são ininterruptamente produzidos no corpo humano, para o gasto energético, desintoxicação, sinalização química, e função imunológica (Ali et al., 2008; Scheneider e Oliveira, 2004). A produção de espécie reativa em excesso induzida por uma falha no mecanismo de defesa ou exposição a substâncias oxidativas, devido ao dano na estrutura das células, DNA, lipídios e proteínas pode aumentar em até trinta doenças diferentes (Ali et al., 2008). Além de dos processos biológicos haverá a formação de uma variedade de radicais

livres (Soares, 2002; Erenel et al., 1993),

As fontes vegetais têm sido foco de interesse como antioxidante e cada vez mais espécies de Cactáceae vêm demonstrando essa atividade) por eliminação dos radicais de oxigênio e da inibição de peroxidação (Braca et al,2003).

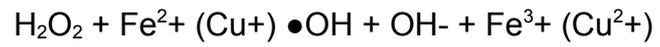
Algumas espécies da família Cactáceae se destacam quanto ao poder no sequestro de radicais livres ou antioxidante, como a *Opuntia monacantha* (Ligia et al., 2010). Iris et al., (2011) também demonstraram que as espécies de cactos como a *Lepismium lorentzianum*, *Lepismium lumbricóides*, *Rhipsalis floccosa*, *Pfeiffera ianthothele* com excelentes potenciais de sequestro de radicais Livres, assim como o manacaru (*C. fernambucensis*), que além de possuir um alto potencial antioxidante, também apresentam a propriedade de inibir a produção de NO por macrófagos estimulados. Estes resultados indicam um possível potencial anti-inflamatório para este fruto (Oliveira et al., 2009).

Muitos vegetais são reconhecidos como fontes de compostos antioxidantes, principalmente porque elas contêm flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas e outros micronutrientes antioxidantes. Tais compostos são de alto interesse por causa da sua origem natural e sua habilidade de agir com eficiência contra radicais livres (Reis, 2011; Langlely-Evans, 2000).

Entre os compostos fenólicos que ocorrem naturalmente, flavonoides ganharam um interesse particular por causa de suas atividades farmacológicas (Medina-Torres et al., 2011; Braca et al,2003; Di Carlo et al., 1999). Os efeitos terapêuticos de muitos medicamentos tradicionais podem ser atribuídos à presença de flavonoides .(Hanasaki et al., 1994).

A atividade antioxidante dos flavonoides foi atribuída, devido à sua habilidade para doar elétrons (Fernández-López, et al., 2010). Estes podem prevenir danos causados pelos radicais livres através de diferentes reações (Wójcik,et al., 2010; Fernández-López, et al., 2010):

- Por inibição da ação das enzimas responsáveis pela produção do anion superóxido, como a xantina oxidase e a proteína quinase C;
- Por quelação de metais vestigiais que têm um papel importante no metabolismo do oxigênio. O íon ferro e o cobre são possíveis potenciadores da formação de espécies reativas de oxigênio, como por exemplo pela redução de peróxido de hidrogênio que dá origem a radicais hidróxido altamente agressivos:



- Por reação direta com radicais livres. Os flavonoides são oxidados por radicais, resultando em radical mais estável e menos reativo, os flavonoides estabilizam as espécies reativas de oxigênio reagindo com o composto reativo do radical:



4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos relacionados à parte química foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA / UENF), contou-se com a colaboração do Laboratório de Química (LQUI) na pessoa do Prof^o. Dr. Rodrigo Rodrigues, do Centro de Ciências e Tecnologias (CCT), da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ.

4.1) Materiais, vidrarias, reagentes e equipamentos do Ensaio Fitoquímico

4.1.1) Regentes e Solventes

- Acetato de etila P.A. (LabSynth);
- Hexano P.A. (LabSynth);
- Butanol P.A. (LabSynth);
- Metanol P.A. (LabSynth);
- Clorofórmio P.A. (LabSynth);
- Diclorometano P.A. (LabSynth);
- Ácido sulfúrico P.A. (LabSynth);
- Ácido acético (LabSynth);
- Álcool etílico (LabSynth);.
- Metanol deuterado, Cambridge Isotope Laboratories, INC;
- Clorofórmio deuterado, Cambridge Isotope Laboratories, INC;
- DMSO deuterado, Cambridge Isotope Laboratories, INC;

- Sílica gel 60 (0,063–0,200 mm), Merck Darmstadt (Para a cromatografia em coluna);
- Cromatofolhas de Alumínio 20x20 cm com gel de sílica 60 F254 Merck;
- Vanilina (Vetec);
- Nitrato de bismuto (Vetec);
- NP/PEG (Natural Product Reagente).

4.1.2) Equipamentos

- Espectrômetro de Massas acoplado ao Cromatógrafo Gasoso, Modelo CG/EM–QP–5050, SHIMADZU;
- Brucker 400 MHz do Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jones;
- Evaporador Rotativo Modelo R-114, Büchi;
- Câmara com Lâmpada Ultravioleta (254 nm e 365 nm), Adamo;
- Balança Analítica Modelo AY 220, Shimadzu;
- Ultrassom Modelo USC 1450, Ultrasonic Cleaner;
- Estufa de secagem modelo A-HT, Fanem;
- Placa de aquecimento Modelo 752 A, Fisaton.;
- Cromatografia Líquida de Alta eficiência – CLAE, Shimadzu Class, modelo LC-10, com duas bombas LC10AT, (detector por varredura de espectro ao ultravioleta por arranjo de fotodiodos SPD-M10A) e injetor Rheodyne 7725i com volume de injeção de 20 µL;
- Pipetador Automático 100-1000µL, Maxipette Micropipette;
- Pipetador Automático 10-100µL, Maxipette Micropipette;
- Liofilizador Modelo 113, Thermo *Savant*. (acoplado a bomba VLP 200).

4.1.3) Vidrarias e materiais

- Colunas cromatográficas de vidro (comprimentos e diâmetros variados);
- Erlenmeyer;
- Bécher;
- Funil de separação;

- Funil com haste longa;
- Pipetas volumétricas e graduadas;
- Ponteiras;
- Balão de fundo redondo;
- Pera de sucção;
- Papel filtro;
- Tubo de RMN, Wilmad/Labglass.

4.2 Coleta de Material Vegetal e Identificação Botânica

O material vegetal foi coletado no complexo lagamar Grussaí-Iquiparí em Campos dos Goytacazes – RJ (entre as coordenadas 21°42'S e 21°48'S de latitude e 41°02'E e 41°03'W de longitude) nos períodos de frutificação, os quais correspondem aos meses de dezembro a fevereiro de 2011. A exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

4.3 Parte Química: Aspectos Experimentais Gerais

Todas as amostras foram em princípio avaliadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), a qual se constitui em uma técnica rápida e de baixo custo para uma análise qualitativa e semiquantitativa. Neste método cromatográfico, o solvente ou a mistura dos solventes a serem utilizados como fase móvel devem ser cuidadosamente selecionados, pois terão papel fundamental na separação de misturas (Luna, 2006).

Foram usadas para análise e para a separação das substâncias placas cromatográficas de sílica gel 60 F₂₅₄ em alumínio, espessura 0,2 mm da MERCK (20X20 cm). Estas foram cortadas com 4 cm de comprimento e as aplicações das amostras feitas a cerca de 0,7 cm acima da borda inferior da placa e 0,5 cm de distância das bordas laterais para a realização da Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Para a separação, a fase móvel utilizada foi butanol: ácido acético: água (8:1: 1) (Mabry et al., 1970).

Após o desenvolvimento da cromatografia é requerido o uso de reveladores químicos e físicos. Como as placas cromatográficas se encontravam pré-

impregnadas com material fluorescente, foram reveladas com lâmpada de UV em comprimentos de onda de 254 e 350 nm (método físico) e também foram reveladas com a solução ácida de sulfato cérico, um revelador químico preparado com ácido sulfúrico e água (método químico). Depois de preparado, o sulfato cérico é aplicado na placa cromatográfica e, em seguida, a placa é aquecida (Sabudak et al., 2005).

Decorrida a análise por CCD, a amostra que ofereceu manchas de interesse foi fracionada por cromatografia em coluna para purificação. Desta forma, o sumo foi perticionado e as frações oriundas foram acompanhadas por CCD seguindo o protocolo descrito acima. As sílicas para a montagem das colunas para a cromatografia empregadas foram:

- *Sílica para cromatografia de fase inversa RP-2*. Consiste em uma fase estacionária não-polar e a fase móvel relativamente polar, o oposto do que ocorre no sistema cromatográfico de fase normal, no qual a fase estacionária é altamente polar, suportada em partículas de sílica, e a fase móvel é relativamente não-polar (Skoog et al., 2002);
- *Sílica para a cromatografia de exclusão por tamanho*. O gel de dextrana utilizado foi a Sephadex LH-20, a qual consiste de partículas pequenas (~ 10 µm) de sílica ou de polímero contendo uma rede de poros uniformes nos quais moléculas do soluto e do solvente podem se difundir. Assim, moléculas maiores do que o tamanho médio dos poros da fase estacionária são excluídas e essencialmente não sofrem retenção, sendo as primeiras a serem eluídas. Já as moléculas com diâmetro menor que dos poros podem penetrar pelo emaranhado de poros e ficar retidas por tempos maiores, sendo as últimas a serem eluídas (Skoog et al., 2002).

Além desta, outras técnicas cromatográficas foram empregadas, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), a fim de se avaliar e estabelecer o perfil químico. Esta é uma técnica valiosa, pois apresenta alta sensibilidade, resposta rápida aos solutos dependendo do detector utilizado, com resposta dependente da fase móvel, informação qualitativa do pico desejado entre outros fatores (Baggio e Bragagnolo, 2004).

As análises foram realizadas no equipamento Shimadzu Class, modelo LC-10, com duas bombas LC10AT, sendo a detecção feita nos comprimentos de onda fixos de 254 nm e 332 nm (detector por varredura de espectro ao ultravioleta por arranjo de fotodiodos SPD-M10A) e injetor Rheodyne 7725i com volume de

injeção de 20 µL. Utilizou-se a coluna RP-18 da Macherey-Nagel (5µm, 4,0 x 250mm). O sistema de solvente usado foi água acidificada com ácido fosfórico (pH 3,2) e acetonitrila, sendo a eluição gradiente, conforme ilustrado na tabela 5, com fluxo de 1 ml/min. As amostras foram preparadas na concentração de 5 mg/ml (p/v).

Tabela 5: Sistema de gradiente utilizado para realização de CLAE.

Tempo (min)	Concentração de A	Concentração de B
	Água Acidificada (pH 3,2)	Acetonitrila
0	100	0
5	85	15
10	80	20
15	70	30
20	60	40
25	59	41
30	58	42
35	50	50
40	100	0

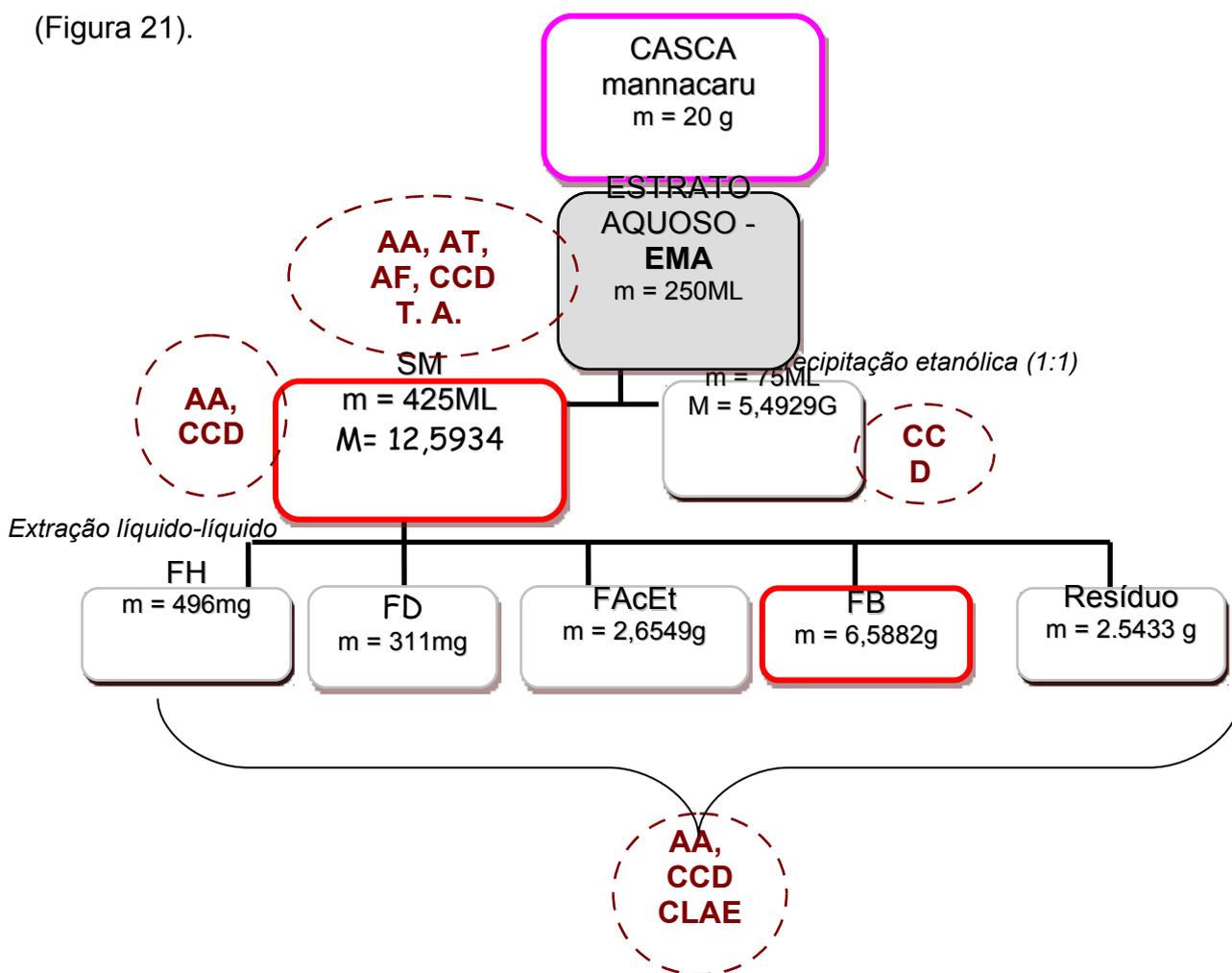
Para a identificação e caracterização da substância isolada foram usados os métodos espectroscópicos como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , além das técnicas bidimensionais como COSY ^1H - ^1H , HMQC e HMBC, sendo a amostra solubilizada em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6). O equipamento utilizado para as análises foi:

- Varian 400 MHz, do LAMAR - NPPN/ UFRJ (Laboratório de Análises Multiusuários por RMN);
- Bruker 400 MHz do Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jones (Departamento de Bioquímica - UFRJ).

4.3.1 Preparo do Extrato Aquoso e Frações

Para o preparo do extrato aquoso, da casca do fruto de *Cereus fernambucensis* foram limpos, lavados com água destilada e separadas as suas partes (casca, semente e polpa). A casca foi separada da polpa e submetida à extração com água, originando o extrato (EMA).

O extrato foi preparado na proporção de 75% (p/v), em liquidificador comercial, sendo depois centrifugado e liofilizado. Uma parte do extrato foi submetida a uma precipitação com etanol (1:1) e, em seguida, realizou-se uma extração líquido-líquido a partir do sobrenadante (EMAS), oriundo do extrato da casca dos frutos com solventes em ordem crescente de polaridade, originando as seguintes frações: hexano (FH), acetato de etila (FACet), butanol (FB) e resíduo (Figura 21).



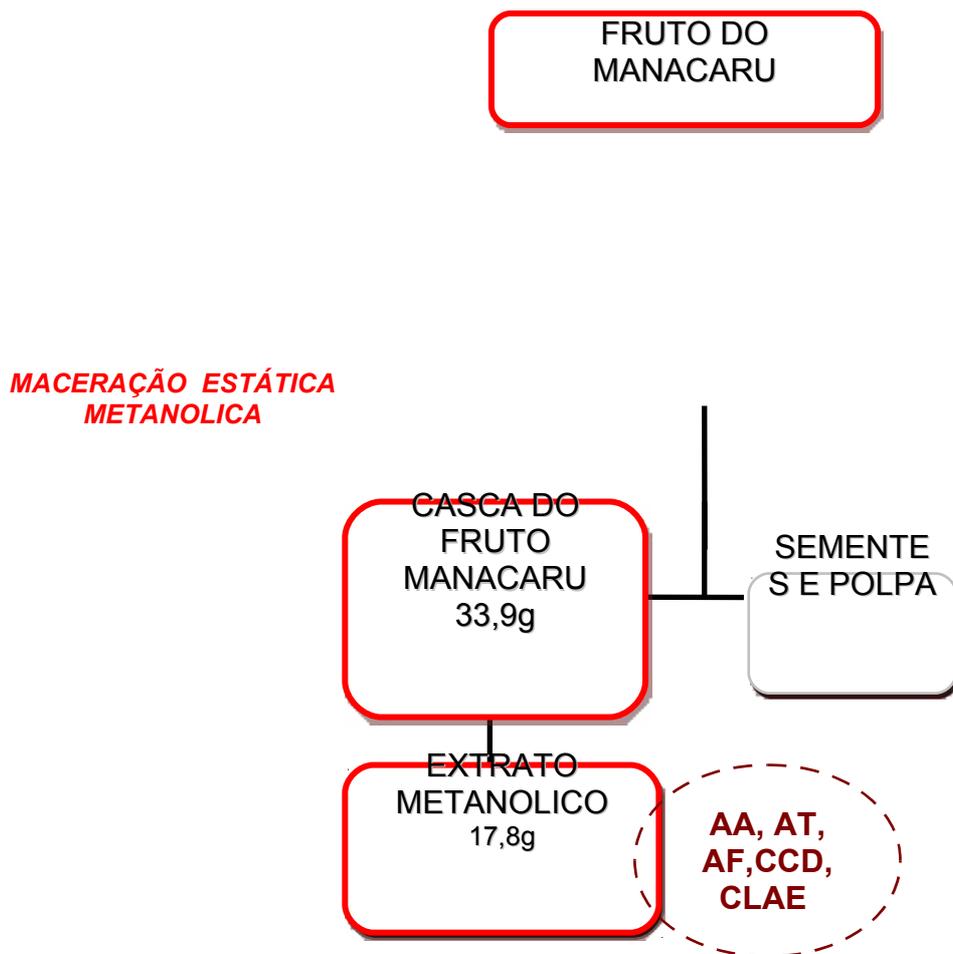
PPT= precipitado, SM = Sobrenadante, CCD= Cromatografia em Camada Delgada , CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, FH- Fração Hexânica, FD= Fração Diclorometano, FACet= Fração Etanólica, FB= Fração Butanólica, AA = Atividade Antioxidante, T.A. = Teor de Açúcar, AT= Análise de Taninos. AF= Análise de Fenóis totais

Figura 21: Esquema da obtenção do extrato aquoso e frações a partir da casca de *Cereus fernambucensis*

A fração FB foi selecionada para as purificações e outros ensaios por ser a que apresentou substâncias mais polares, como as moléculas fenólicas.

4.3.2 Preparo do Extrato Metanólico

Os frutos foram limpos, e separados das cascas, da semente. As cascas foram submetidas à extração exaustiva, por maceração estática com metanol (figura 22), esse extrato foi evaporado a 35°C em banho-maria ao abrigo da luz (Oliveira, 2005).



CCD= Cromatografia em Camada Delgada , CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, AA = Atividade Antioxidante, AT= Análise de Taninos. AF= Análise de Fenóis totais

Figura 22: Esquema da obtenção do extrato metanólico a partir das cascas de *Cereus fernambucensis*.

4.3.3 Fracionamento, Isolamento e Identificação de Substâncias do Extrato Aquoso

Após o preparo e a obtenção, o extrato foi submetido a uma extração líquido-líquido originando 5 frações, exemplificados no item 4.3.1, a fração butanólica (FB), foi cromatografada em coluna aberta de fase inversa RP-2, a Tabela 6 apresenta a fase móvel empregada na coluna cromatográfica até a obtenção das subfrações.

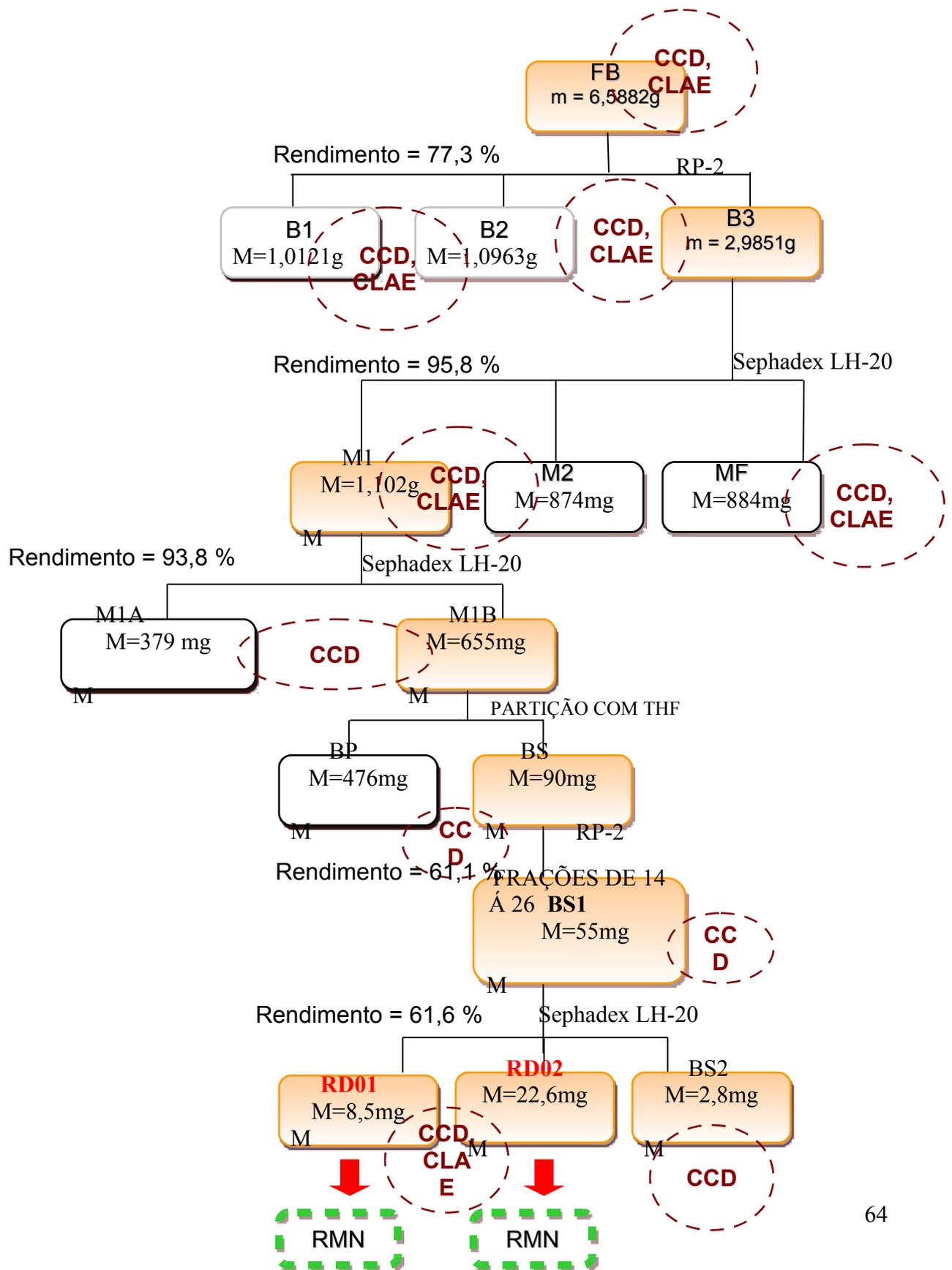
Tabela 6: Sistema de solventes utilizado na cromatografia em coluna aberta aplicado nas frações.

Concentração de A	
Água	Metanol
100	0
70	30
50	50
30	70
0	100

A figura 23 mostra o esquema de fracionamento em Coluna Aberta da fração FB, em que subfrações foram reunidas de acordo com o perfil observado nas placas em CCD. O primeiro processo cromatográfico foi por RP2, obtendo-se então 3 conjuntos, sendo a B3 o que apresentou melhor estado de purificação, e posteriormente foi submetido aos ensaios cromatográficos, e a uma Coluna Aberta em gel de Sephadex LH-20. Três subfrações, foram originadas deste procedimento no qual por meio dos ensaios cromatográficos, verificou-se que a subfração M1 apresentou os melhores resultados.

M1 foi submetida à outra Coluna Aberta em gel de Sephadex LH-20, originando 2 outras subfrações(M1A, e M1B), M1B foi submetida a uma partição com THF (tetrahidrofurano), resultando em um sobrenadante (BS) e um Precipitado (BP). O sobrenadante (BS) foi cromatografado em Coluna Aberta (RP2), na qual foram obtidas várias frações e reunidas de acordo com as características semelhantes entre si na placa de CCD semelhante.

O conjunto (BS1) apresentou os melhores resultados e posteriormente foi submetido a uma Coluna de Gel de Sephadex LH-20 originando 3 Subfrações: (S1A), (S1B) e (S1C). Foram realizadas as análises por CLAE para detectar sua pureza e posteriormente as análises por RMN.



CCD= Cromatografia em Camada Delgada ,
CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência,
FB= Fração Butanólica,

Figura 23: Esquema do fracionamento e purificação do extrato aquoso.

4.4. Atividade Antioxidante

O extrato aquoso e as frações obtidas a partir do mesmo (EMA, SM, FH, FAcEt, FB) foram submetidos à avaliação quanto à atividade antioxidante pelo método fotolorimétrico do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH – 0,1mM).

A capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi inicialmente escolhida por se tratar de uma metodologia simples, rápida e sensível. As substâncias antioxidantes presentes nas amostras reagem com o DPPH, que é um radical estável, e converte-o em 2,2-difenil-1-picril-hidrazina. Quando uma solução de DPPH é misturada com uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, a forma reduzida do radical gerado é acompanhada de perda de cor (Ali et al., 2009; Amié et al., 2003). Desta forma, o grau de descoloração indica o potencial antioxidante da amostra (Figura 24).

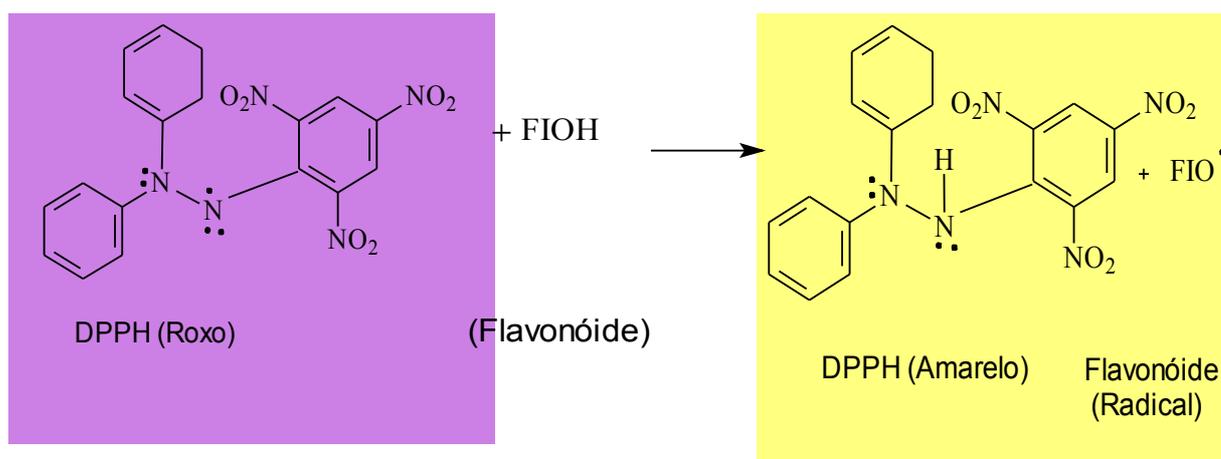


Figura 24: Representação da reação do radical DPPH com um antioxidante (Flavonoide).

Este método consiste na adição de 1 mL do extrato em concentrações que variam de 0,1 - 1000 µg/mL, em 1 mL de uma solução metanólica de DPPH (0,1 mM), sendo a reação processada em 1h à temperatura ambiente. Imediatamente, a absorção do DPPH foi verificada em 515 nm em um espectrofotômetro UV-Vis.

A atividade sequestrante de radicais livres de cada amostra foi expressa pela relação da absorção de DPPH, baseado na solução de DPPH ausente do extrato (controle negativo) e uma solução de um padrão de substância aromática (controle positivo), o 2,6-di-(tert-butil)-4-metilfenol (BHT). Após, o percentual sequestrador (PS%) de radicais livres foi calculado (Koleva et al., 2002). A capacidade de sequestrar radicais livres foi expressa como percentual de inibição da oxidação do radical e foi calculada mediante a seguinte fórmula (Yen & Duh, 1994):

$$\% \text{ de inibição} = ((A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Extr}})/A_{\text{DPPH}})*100$$

Onde A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH e A_{Extr} é a absorbância da amostra em solução.

4.5. Avaliação e Dosagem do Teor de Taninos e Fenóis Totais

4.5.1 Método para Dosagem de Taninos Hidrolisáveis

Na determinação de taninos hidrolisáveis (Figura 25), extrato aquoso e o extrato metanólico da casca do fruto do manacaru-*Cerus fernambucensis* (500 mg) foram macerados com 4 porções de 5 ml de solução de acetona/ água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml. Uma alíquota de 1 mL da amostra foi hidrolisada com 5 ml de ácido sulfúrico 1 M (H_2SO_4) e aquecida em banho-maria a 95°C por 24 horas. Após este processo, foi resfriada em temperatura ambiente, avolumada para 10 ml e reagiu com solução de rodanina ($\text{C}_3\text{H}_3\text{NOS}_2$) e hidróxido de potássio 0,5M (KOH). As amostras foram analisadas em triplicata e as positivas desenvolveram coloração vermelho-rósea. A leitura de absorbância foi feita a 520 nm depois de 5 a 10 minutos (Moreira, 2000) e os resultados foram expressos em porcentagem (p/v).

4.5.2 Método para Dosagem de Taninos Condensados

Na determinação de taninos condensados (Figura 25), o extrato aquoso e o extrato metanólico da casca do fruto do manacaru-*Cerus fernambucensis* (500 mg) foram macerados com 4 porções de 5 ml de solução de acetona/ água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml. Prosseguindo, para 1 mL de amostra foram adicionados 4mL de solução de butanol (BuOH) em ácido clorídrico 5% (HCl) e aqueceu-se em banho-maria a 95°C por 2 horas. As amostras positivas desenvolveram coloração vermelha ou violeta e a absorbância das amostras foi feita a 540 nm após 5 a 10 minutos (Moreira, 2000), sendo os resultados expressos em porcentagem (p/v).

4.5.3 Método para Determinação de Fenóis Totais

Para a determinação do teor de fenóis totais (Figura 25), extrato aquoso e o extrato metanólico da casca do fruto do manacaru-*Cerus fernambucensis* (500 mg) foram macerados com 4 porções de 5 ml de solução de acetona/ água (7:3). As porções foram unidas em balão volumétrico e o volume completado para 25 ml. Usou-se o método de Folin-Denis, o qual envolve a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul (Moreira, 2000; Swain & Hillis, 1959).

Adicionou-se 0,5 mL do reagente de Folin-Denis em 0,5 mL da amostra e 3 mL de água destilada e avolumou-se para 10mL. Após 1 hora, 1 mL da solução de carbonato de cálcio saturada (Na_2CO_3) foi adicionada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 760nm e os resultados foram expressos em mg/mL. A quantidade total de fenóis de cada extrato foi quantificada por meio de uma curva padrão preparada com ácido tânico (Moreira, 2000).

O espectro de absorção dos extratos metanólico (EMM) e aquoso (EMA) foi realizado em UV-VIS Shimadzu Mini 1240 para todas as amostras e todos os experimentos foram realizados em triplicata.

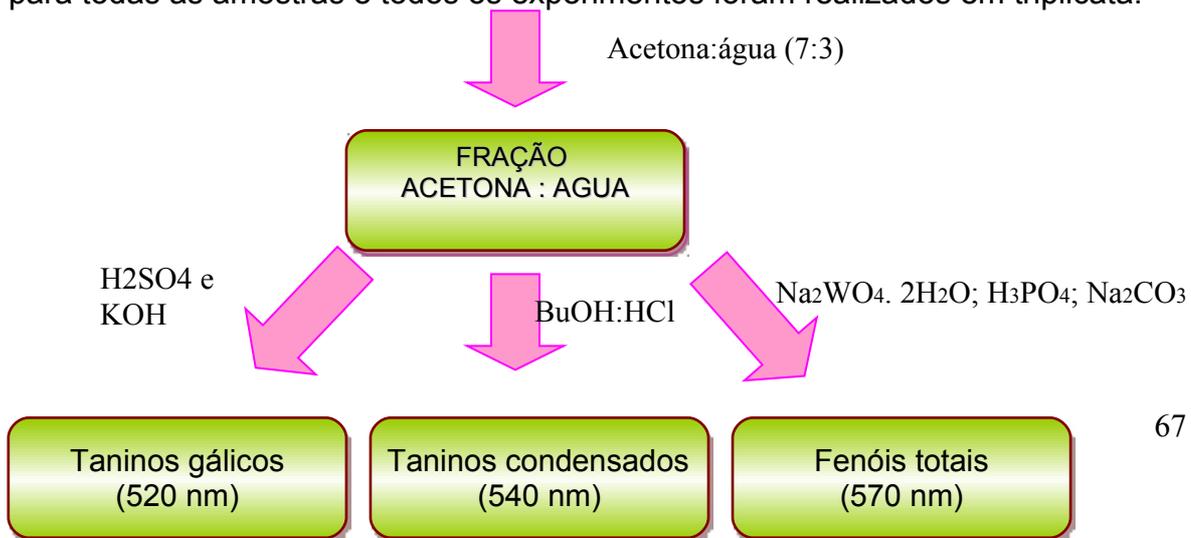


Figura 25: Fluxograma representativo para a dosagem de taninos e fenóis totais extrato aquoso e o extrato metanólico da casca do fruto do manacaru-*Cerus fernambucensis*.

4.6. Avaliação e Dosagem do Teor de vitamina C

Os teores de ácido L-ascórbico foram determinados por meio de titulação com 2,6 dicloroindofenol (Cuniff, 1998), substituindo o ácido metafosfórico por ácido oxálico 1%, conforme (Souza, 2004; Nogueira et al, 2002).

Este método baseia-se na redução do 2,6-dicloroindofenol (2,6D), de cor roxa, pelo ácido L-ascórbico em meio ácido, tornando-se incolor. O ponto final de titulação é verificado quando todo o ácido ascórbico presente foi oxidado e a solução 2,6D, não reduzida, confere coloração rosada à solução. O mesmo procedimento foi repetido para o ensaio em branco, substituindo a solução padrão de vitamina C, por água destilada. O valor médio das titulações com solução padrão, subtraído do branco foi o título da solução 2,6D. O resultado foi expresso em mg/100g de amostra para a fruta in natura e mg/100mL para os sucos(Souza, 2004; Nogueira et al, 2002).

4.7. Avaliação e Dosagem do Teor de açúcar

A análise do teor de açúcar foi feita com 1g de casca e polpa fresca que passaram pelo processo de maceração em 10mL de água Milli-Q, a qual foi centrifugada por 10 minutos, filtrada e injetada em cromatógrafo líquido com índice de refração usando coluna Phenomenex Rezex RCM (300 X 7,8 mm) mantida à temperatura de 60°C; volume de injeção de 20 µl; detector de índice de refração RI YL9170; fase móvel H₂O e fluxo de 0,6 ml/min.

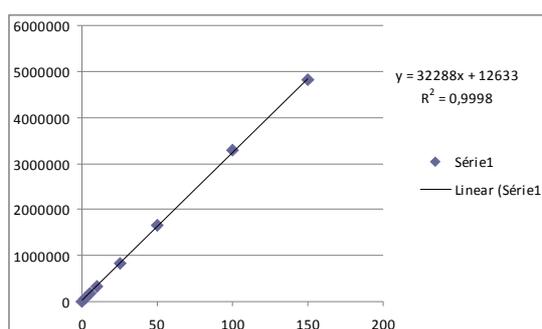
Para a quantificação dos açúcares nos extratos foi realizada uma curva padrão em diferentes concentrações (área do pico X massa em mg) utilizando-se

uma amostra pura de glicose (Tabela 7; Figura: 26). A partir desta curva, as amostras serão quantificadas quanto ao teor de glicose e frutose.

Tabela 7: Dados de massa (em mg/ml) injetada de glicose e as respectivas áreas obtidas.

Massa de glicose injetada (em mg/ml)	Área correspondente ao pico
150	4814167
100	3290212
50	1656512
25	820930
10	330247
5	165123
2,5	82561,5
0	0

Figura 26: Gráfico da área do pico X massa (em mg/ml) injetada de glicose obtido a partir dos valores apresentados na Tabela 7.

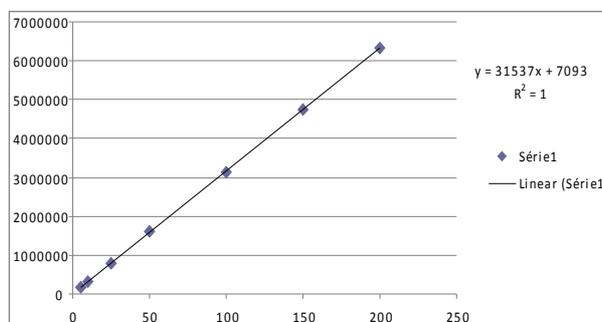


Para a quantificação dos açúcares nos extratos foi realizada uma curva padrão (área do pico X massa em mg/ml) utilizando-se uma amostra pura de frutose, (Tabela 8; Figura: 27).

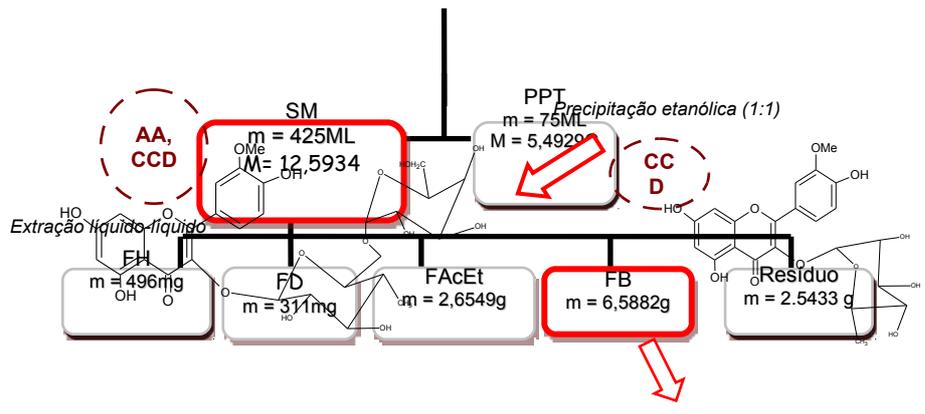
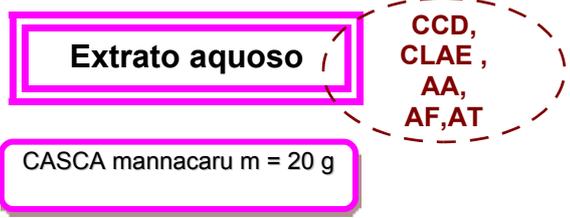
Tabela 8: Dados de massa (em mg/ml) injetada de frutose e as respectivas áreas obtidas. A partir desta curva, as amostras serão quantificadas quanto ao teor de frutose.

Massa de frutose injetada (em mg/ml)	Área correspondente ao pico
200	6316649
150	4743410
100	3143163
50	1596515
25	788991
10	326040
5	165123
2,5	82561,5
0	0

Figura 27: Gráfico da área do pico X massa (em μg) injetada de frutose obtido a partir dos valores apresentados na Tabela 8.



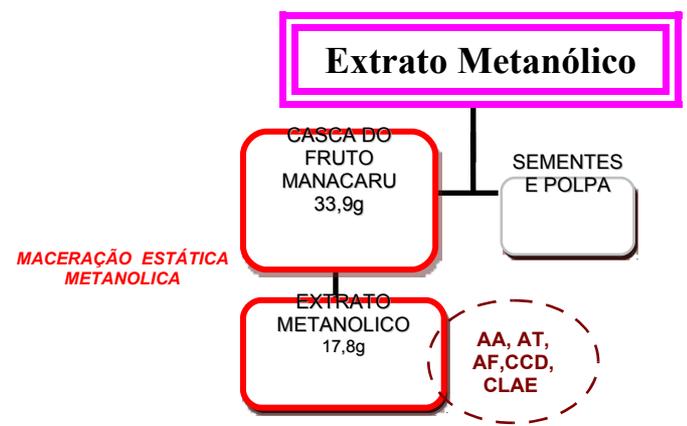
4.8 Resumo das atividades desenvolvidas



isoramnetina-3-O-rubinosídeo

Isoramnetina-3-O-raminosídeo

CCD= Cromatografia em Camada Delgada , CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, AA = Atividade Antioxidante, AT= Análise de Taninos. AF= Análise de Fenóis totais



CCD= Cromatografia em Camada Delgada , CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, AA = Atividade Antioxidante, AT= Análise de Taninos. AF= Análise de Fenóis totais

Figura 28 : Resumo do extrato aquoso e metanólico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Substância isolada RD01

A CCD mostra duas manchas com Rf muito próximas, mostrada na figura 29, e possui Rf de 0,54(RD01) e Rf:0,48(RD02). Estas manchas quando submetidas à revelação com sulfato cérico sob luz UV (332 nm) apresentam coloração azul, característica de substâncias fenólicas e, neste caso de flavonoide.

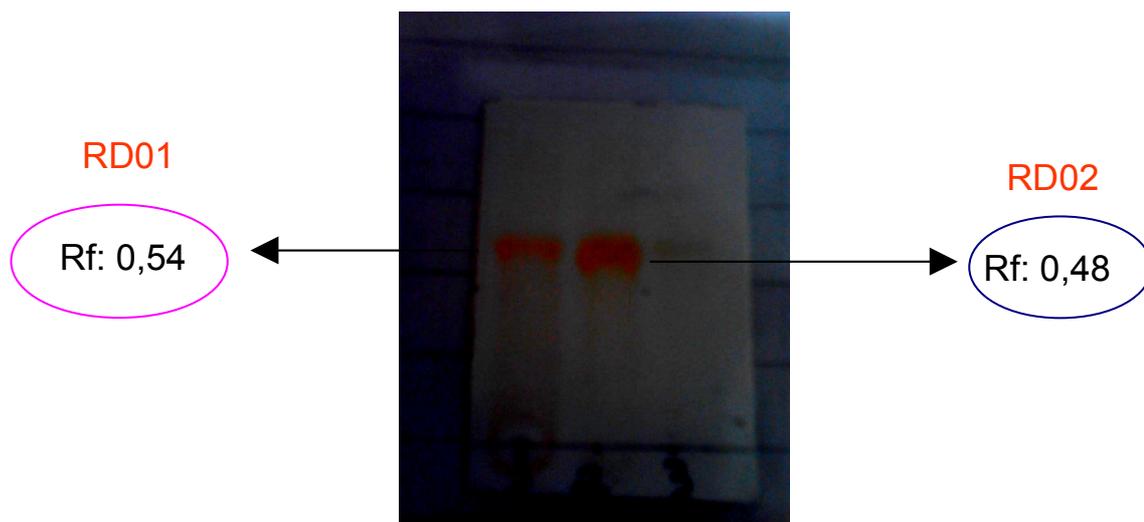


Figura 29: Cromatograma das substâncias isoladas (1=RD01, 2=RD02), realizada por CCD. Fase móvel: BAW (8:1:1) e revelado com sulfato cérico (Sabudak et al., 2005).

De acordo com a CLAE (Figura 30 e 31), esta substância se mostrou muito concentrada, com um único pico majoritário com tempo de retenção em torno de 16.46 minutos e com a área de 7071296 para o comprimento de onda 254nm e 6167583 para 350nm.

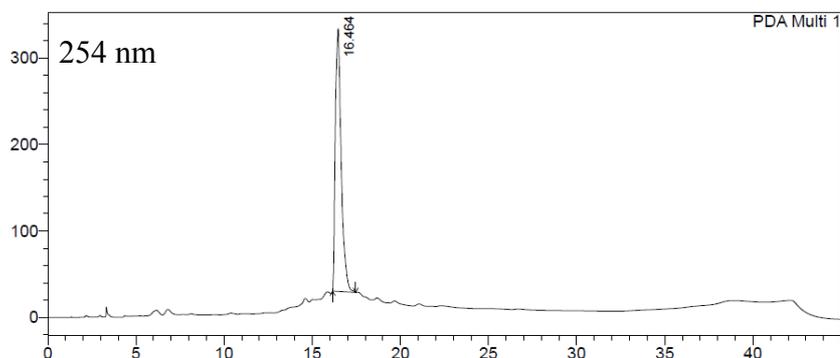


Figura 30: Cromatograma, perfil químico da amostra RD01, avaliado por CLAE.

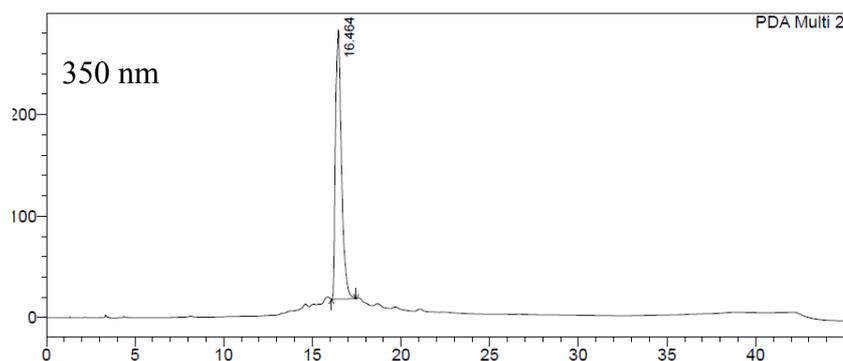


Figura 31: Cromatograma, perfil químico da amostra RD01, avaliado por CLAE.

O espectro de UV para este pico (Figura 33) revela uma banda em aproximadamente 254nm e outra em 354 nm, o que mostra características para as bandas 1 e 2 em sistemas cinamoil e benzoil, respectivamente.

Este fato mostra uma forte característica para a classe dos flavonoides, uma vez que este apresenta as absorções no UV muito semelhantes ao sistema cinamoil e benzoil (figura 32) (Mabry et al.,1970).

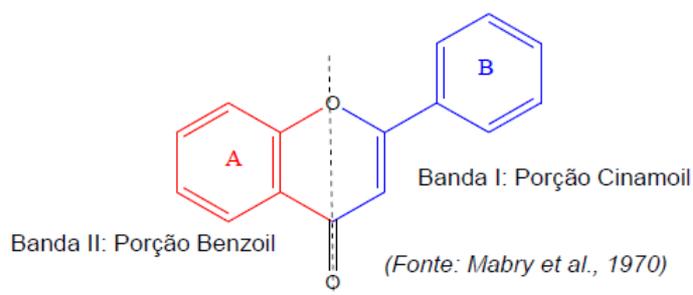


Figura 32: Esquema do flavonoide e suas porções que geram as bandas de absorção características no UV.

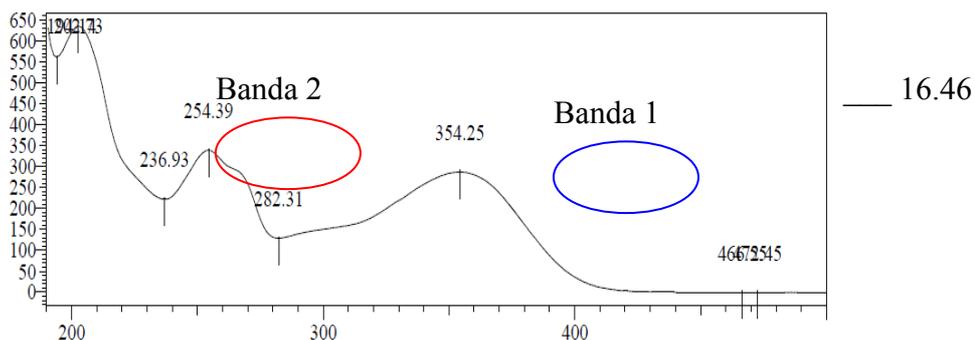


Figura 33: Espectro de UV do pico de tempo de retenção (TR) igual a 16.46 min, correspondente à amostra isolada RD01.

5.1.2 Elucidação Estrutural de RD 01

A substância codificada como RD01, isolada a partir da fração butanólica do extrato aquoso oriunda das cascas dos frutos de manacaru, apresentou-se sob a forma de pó cristalizado amarelo-pálido, com uma massa total isolada de 8,5 mg.

A proposta estrutural para o flavonoide RD01 foi baseada nos dados de RMN 1H, e dos experimentos bidimensionais HSQC e COSY, todos obtidos em DMSO-*d*6.

5.1.2.1 Técnicas monodimensionais

5.1.2.1.1 RMN 1H

O espectro de RMN 1H de RD01 (figura 34) apresentou 8 sinais compatíveis para um flavonoide de natureza glicosídica conforme tabela 15.

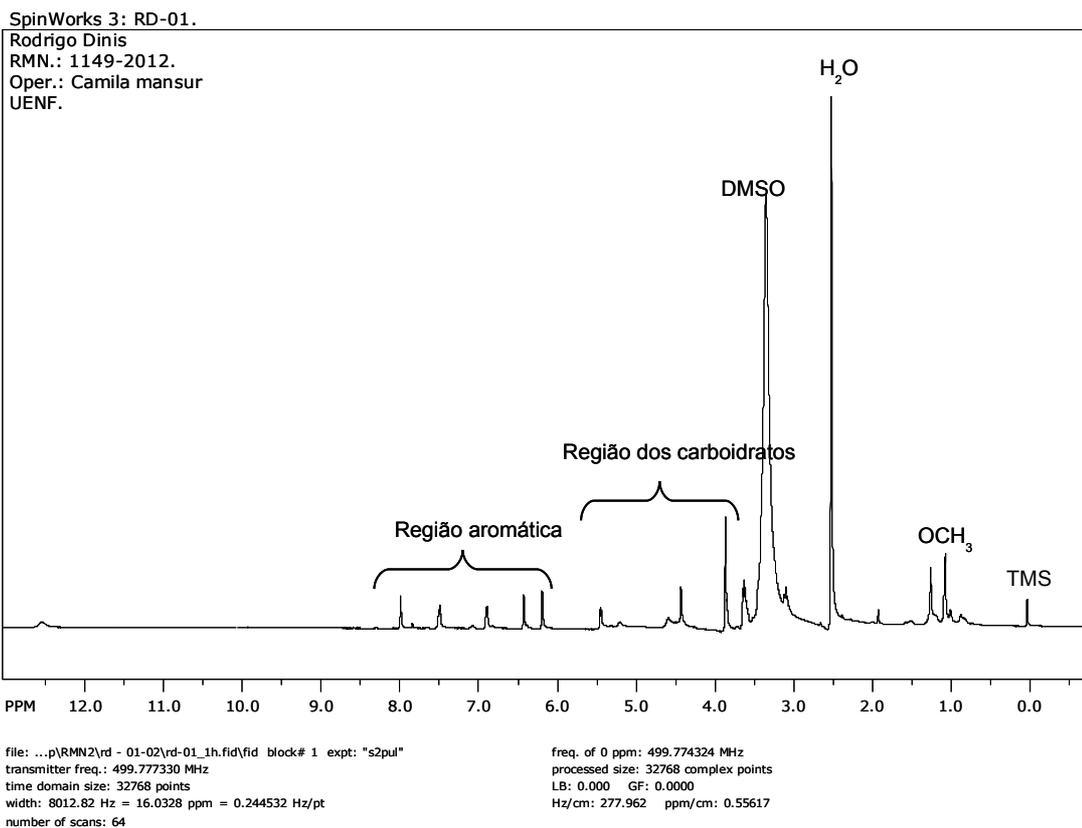


Figura 34: Espectro de RMN 1H (499,77 MHz) de RD01 (DMSO-*d*6)

O singlete em δ 12,57 ppm é correspondente ao hidrogênio da hidroxila da aglicona. O sinal mais deslocado, ou seja, mais desblindado, corresponde ao hidrogênio da posição C5, que se encontra em ligação de hidrogênio com o oxigênio da carbonila em C4, conforme figura 35.

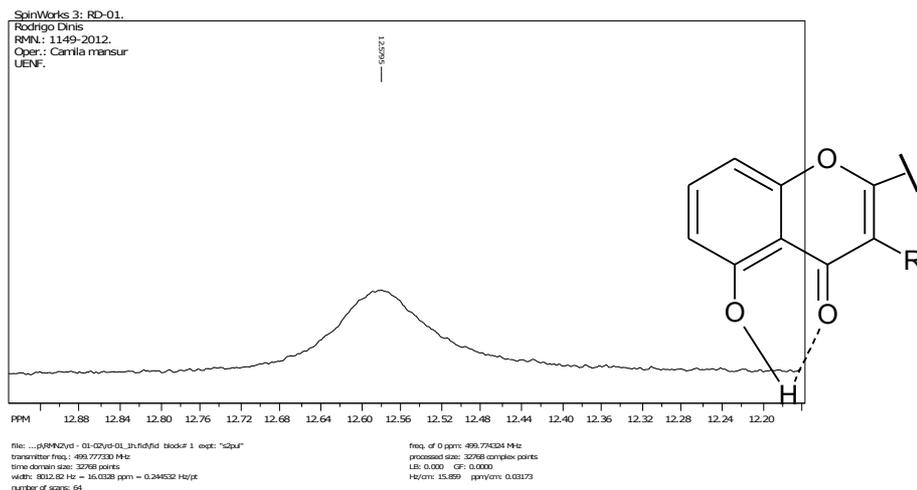


Figura 35: Expansão da faixa de δ 12,95 a δ 12,15 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

A figura 36 mostra a expansão da região dos sinais dos hidrogênios aromáticos, no qual se pode observar dois sinais na região do anel A, sendo um em 6,41 ppm (H-8) e outro em 6,17 ppm (H-6), indicando uma relação *meta* entre esses dois hidrogênios. Todavia, as constantes de acoplamento não puderam ser verificadas, dando a impressão que estes se tratam de singletos e não dubletos com acoplamento *meta* (0,5 -2,0 Hz) (Gallegos-olea et al., 2008).

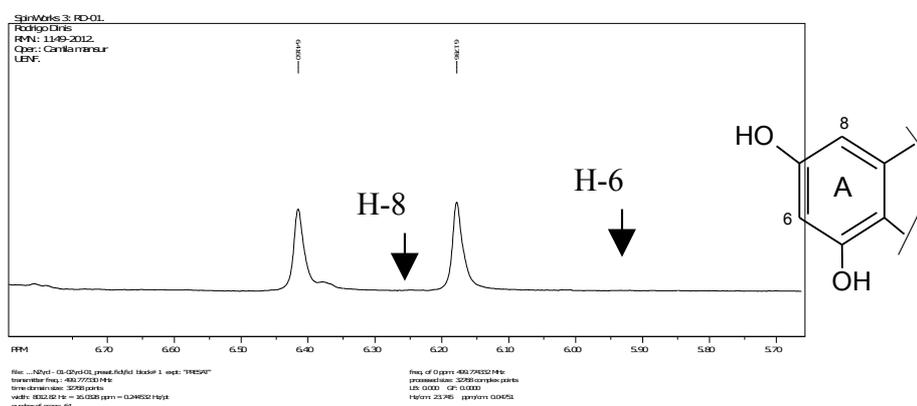


Figura 36: Expansão da faixa de δ 6,75 a δ 5,70 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

Analisando a região do anel B, observa-se um duplete em 7,50ppm $d(J=7,55\text{Hz})$ indicando a presença de acoplamento em posição *orto* (valor elevado para J) (Sem et al., 1992), outro duplete em 6,89ppm $d(J=8,25\text{Hz} -\text{H-5}'$), também com acoplamento em *orto*. Deduz-se com esses dados, que o anel B apresenta um núcleo 4'-hidroxilado, e a presença de um singlete em 7,98 para H-2' (figura 37).

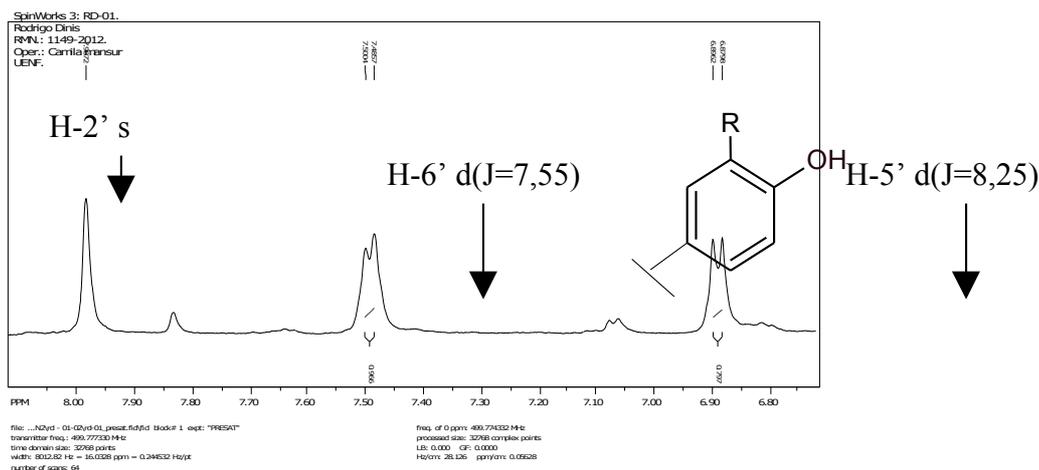


Figura 37: Expansão da faixa de $\delta 8,5$ a $\delta 6,85$ ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

Outros sinais em $\delta 5,45$, $d(J=7,55)$ e o outro em $\delta 4,42$, e um conjunto de sinais na faixa de $\delta 3,85$ a $\delta 1,05$ ppm, indicam a presença de duas unidades de carboidratos com seus correspondentes hidrogênios anoméricos. Um sinal de RMN de 1H em $\delta 3,83$,s, indicou a presença de grupo metoxila localizado no sistema aromático (figura 38).

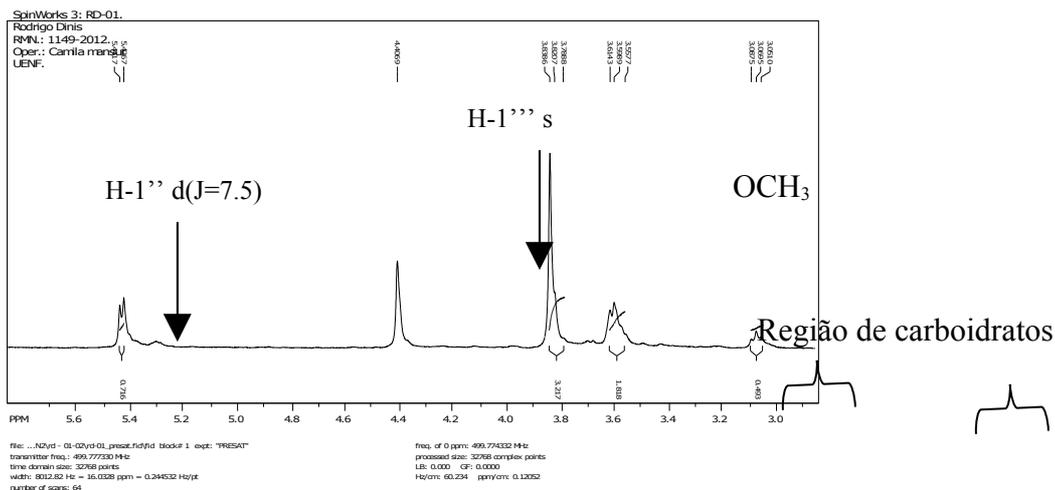


Figura 38: Expansão da faixa de δ 5,5 a δ 2,3 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

Um singlete em 1,05 (s), sugere que uma das unidades de carboidratos pode ser a ramnose, com seu correspondente hidrogênios anomérico em δ 4.42, sendo um singlete largo devido ao acoplamento *equatorial-equatorial* entre os hidrogênios H-1 e H-2 dessas unidades, muito comumente encontrada em flavonoides glicosilados (figura 39).

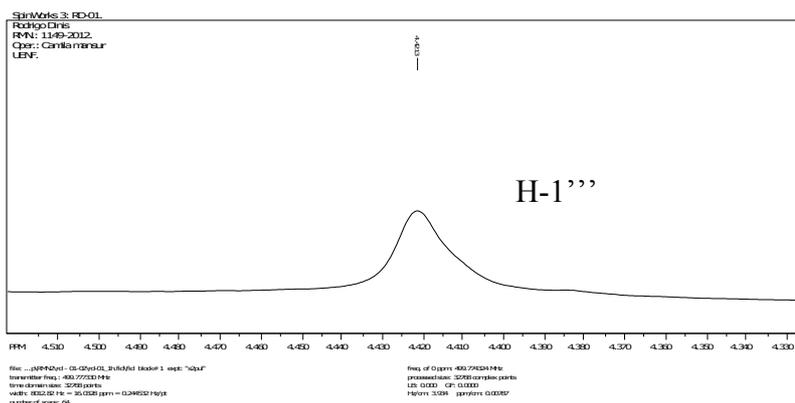


Figura 39: Expansão da faixa de δ 4,49 a δ 4,33 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

A outra unidade glicosídica, dado o sinal de hidrogênio anomérico em δ 5,45 d(J=7,55), pode corresponder a uma galactose (também de ocorrência comum), por apresentar um acoplamento tipo *axial-axial* entre os hidrogênios H-1 e H-2 (figura 40) (Gallegos-olea et al., 2008).

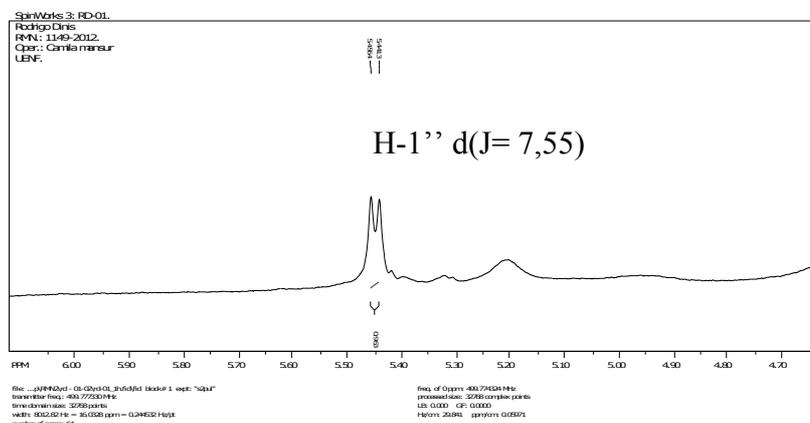


Figura 40: Expansão da faixa de δ 7,9 a δ 4,7 ppm do espectro de RMN 1H de RD01.

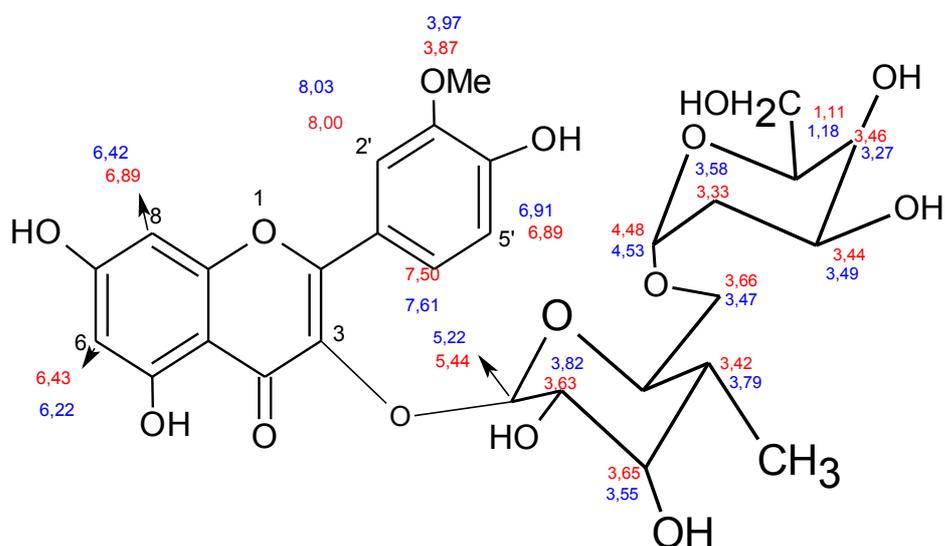
Os sinais de ^1H encontrados sugerem a estrutura aglicona compatível com a da isoramnetina, e para confirmar esta estrutura, tais sinais foram comparados com os dados na literatura (Tabela 09) (Gallegos-olea et al., 2008).

Tabela 09: Comparação dos sinais de ^1H da amostra RD01 e os sinais da isoramnetina observados na literatura.

δ H RD01 (DMSO-d6)	δ H Literatura (DMSO-d6) (Nogueira e Lopes, 2012)
H-6 (6,43)	H-6 (6,22)d,
H-8 (6,89)	H-8 (6,42)d,
H-2' (8,00) s	H-2' (8,03)d
H-5' (6,89; d J= 8,25) d	H-5' (6,91)d
H-6' (7,50; d J= 7,55) d	H-6' (7,61)dd
H-1'' (5,44; d J=7,55) d	H-1'' (5,22)d
H-2''(3,63)	H-2'' (3,82)
H-3'' (3,65)	H-3''(3,55)
H-4'' (3,42)	H-4''(3,79)
H-5'' (3,12)	H-5''(3,66)
H-6'' (3,66)	H-6''(3,47)
H-1''' (4,48)	H-1''' (4,53)

H-2''' (3,33)	H-2'''(3,58)
H-3''' (3,44)	H-3'''(3,49)
H-4''' (3,46)	H-4'''(3,27)
H-6''' (1,11)	H-6'''(1,18)
OCH3 (3,87)	OCH3 (3,97)
OH-5 (12,57)	----

Dessa forma, com os sinais de ^1H obtidos por este espectro e comparando com os dados da literatura, se pode sugerir que a estrutura da aglicona é a isoramnetina-3-O-rubinosídeo (isoramnetina-3-O-rubinosídeo[quercetin-3-O- β -D-galactopiranoil(6'' 1'')- α -L-ranopiranosídeo-3'-metil éter] segundo a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (Figura41).



RD01

Literatura

Figura 41: Estrutura da isoramnetina-3-O-rubinosídeo (RD01) comparada com os dados da literatura (Gallegos-olea et al., 2008).

5.1.2.2 Técnicas bidimensionais

5.1.2.2.1 RMN COSY

A partir da análise do COSY (correlação direta homonuclear ^1H - ^1H) foi possível identificar e confirmar os deslocamentos dos hidrogênios da molécula através do acoplamento sequenciado dos hidrogênios.

Na região da sacarose é possível observar sinais em $\delta 5,50$ - H-1'', $\delta 4,48$ - H-1''' conforme (figura 42).

Na (figura 43), observou-se também o acoplamento entre H-5',6' para o anel B evidenciado no espectro de RMN ^1H .

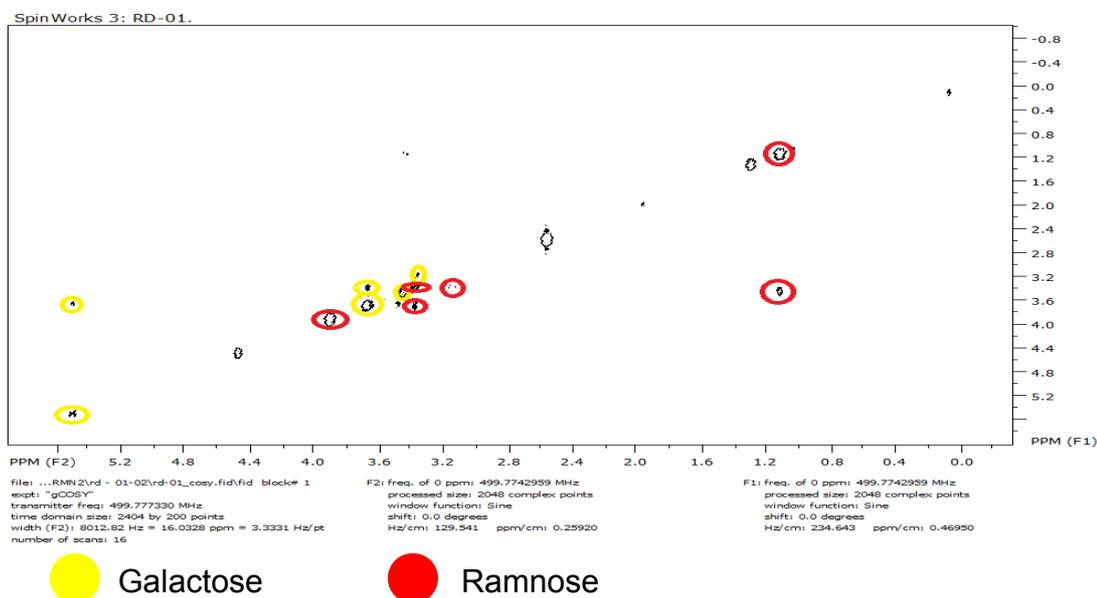


Figura 42: espectro RMN COSY para RD01

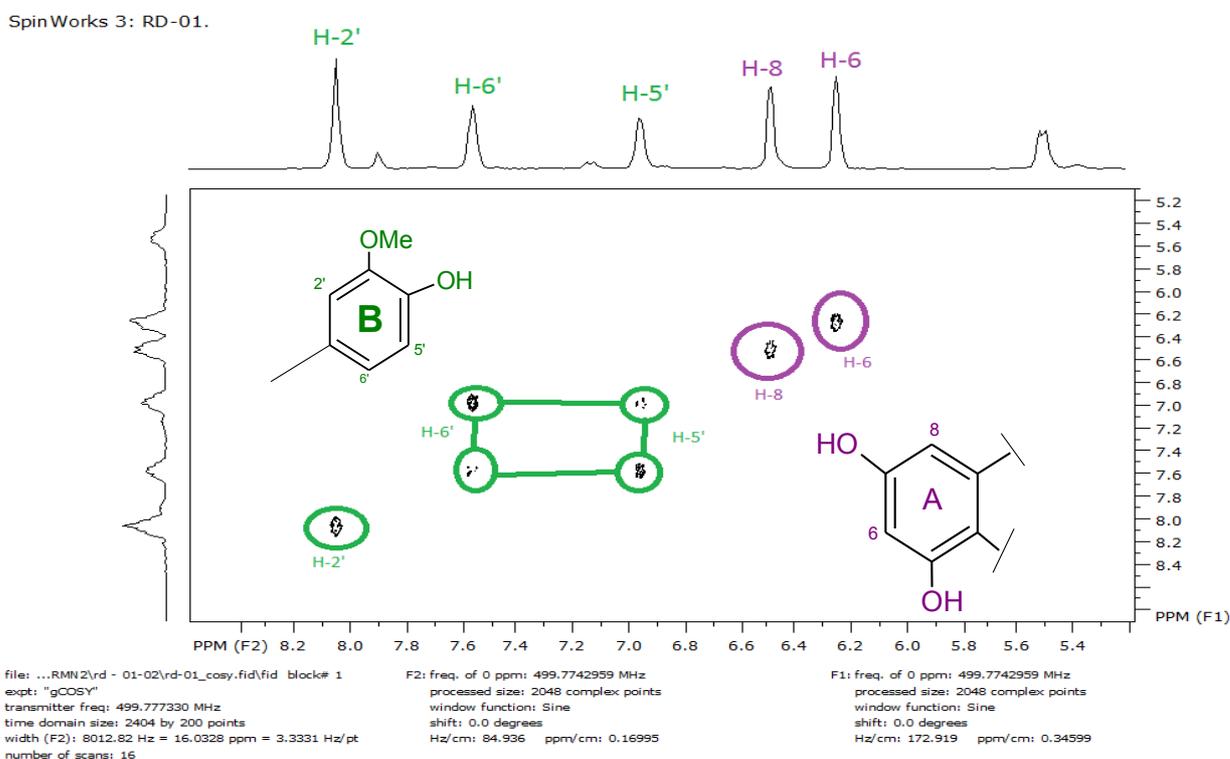


Figura 43: Expansão da faixa de $\delta 7,5$ a $\delta 6,0$ ppm do espectro de RMN COSY e RD01.

5.1.2.2.2 RMN HSQC

A maioria dos dados de ^{13}C foram extraídos a partir do HSQC, devido à pequena massa de amostra isolada de RD 01 não foi possível obter um espectro de RMN ^{13}C , (tabela 10). Assim, apenas os carbonos hidrogenados puderam ter seus sinais atribuídos.

A partir dos dados do espectro de HMQC foi possível estabelecer a correlação direta entre os núcleos de ^1H com os núcleos de ^{13}C a eles diretamente ligados. Dessa forma, através da avaliação dos resultados desta análise foi possível confirmar os valores dos deslocamentos químicos (δ) dos carbonos da aglicona que possuíam um hidrogênio a eles ligado.

Observa-se que conforme figura 44, um sinal em 116,23 correspondente ao carbono C5' e o sinal em 122,1 para o C6'. É possível observar também um sinal em 55,8 atribuí para metoxila no C3' (OCH₃-).

Sinais listados na região de 60 a 80ppm têm características de unidades de carboidratos. Além destes, é possível observar para o anel A em 95,13 ppm o sinal correspondente ao C8-H8 e em 99,35 ppm o sinal para o C6.

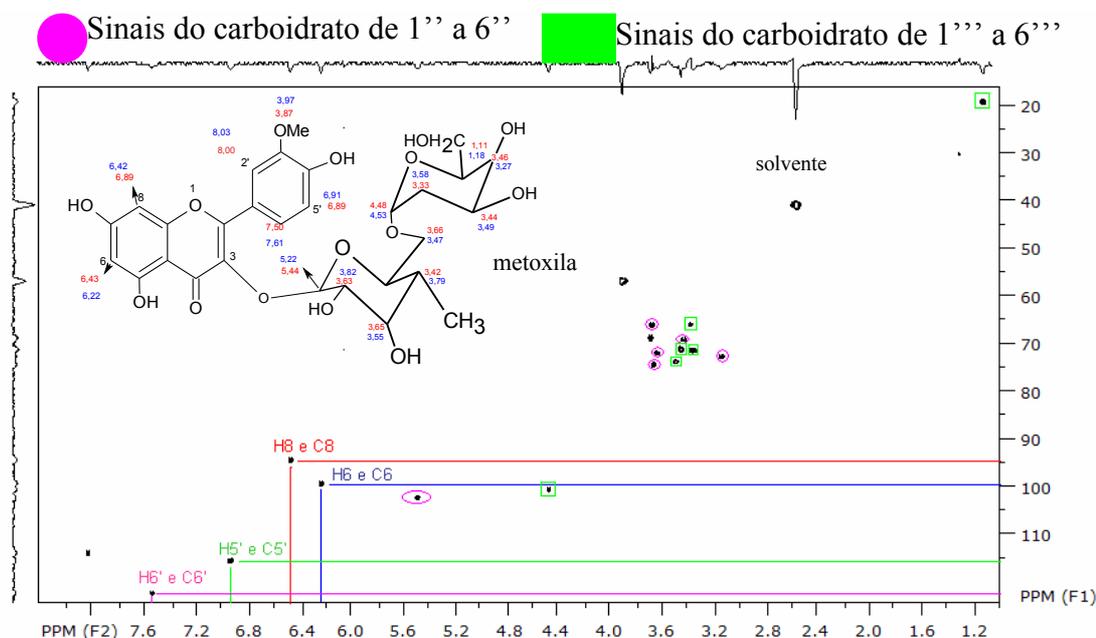


Figura 44: Espectro de RMN-2D HSQC para RD01

A Tabela 10 mostra a comparação dos sinais encontrados nos espectros de RMN da Amostra RD01 com os da literatura.

Tabela 10: Comparação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ da amostra RD01 e os sinais da isoramnetina-3-O-rubinosídeo observados na literatura

Posição	$\delta^{13}\text{C}$ RD01 (DMSO-d6)	$\delta^{13}\text{C}$ Literatura (DMSO-d6) (Nogueira e Lopes, 2012)
6	99,35	100,00
8	95,13	94,90
OCH ₃	55,88	57,00
5'	114,12	116,0
6'	122,1	123,08
1''	101,88	105,0
2''	71,41	73,1
3''	74,07	75,1
4''	68,74	70,1
5''	72,34	75,6
6''	65,49	67,5
1'''	100,19	102,00
2'''	70,65	72,1
3'''	70,82	72,3
4'''	72,18	73,9
6'''	18,32	18,00

5.2 Substância isolada substância RD02

De acordo com a CCD, mostrada na figura 29 pág. 52, as manchas características dos flavonoides são muito pronunciadas, e RD02 possui Rf:0,48. Esta mancha quando submetida à revelação com sulfato cérico sob luz UV (332 nm) apresenta coloração azul, característica de substâncias fenólicas e, neste caso de flavonoide.

De acordo com a CLAE (Figura 45 e 46), esta substância se mostrou isolada, com um único pico com tempo de retenção em torno de 16.45 minutos com a área de 1813136 para o comprimento de onda 254nm e 33113551 para 350nm, muito semelhante ao observado para RD01(figura 31 e 32), indicando que poderia se tratar da mesma aglicona.

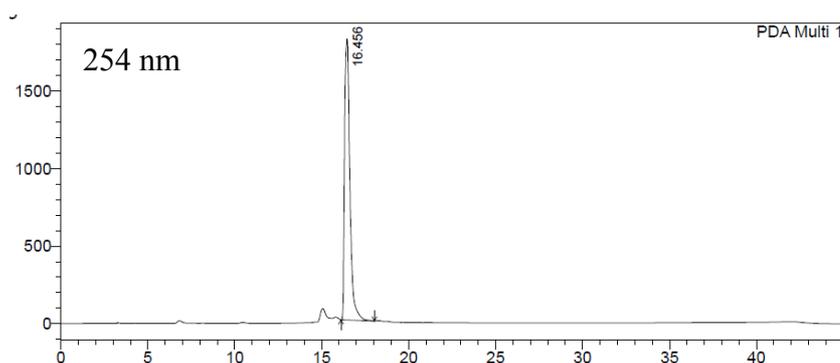


Figura 45: Cromatogramas, perfil químico da amostra RD02, avaliado por CLAE nos comprimentos de onda 254nm e 350nm.

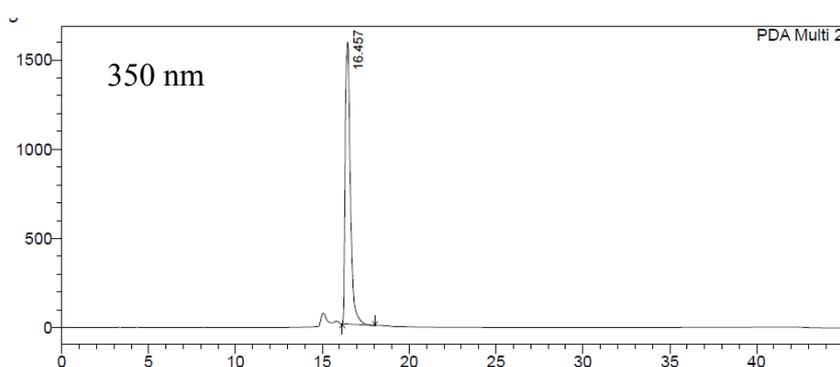


Figura 46: Cromatogramas, perfil químico da amostra RD02, avaliado por CLAE nos comprimentos de onda 254nm e 350nm.

O espectro de UV para este pico (Figura 47) revela uma banda em aproximadamente 254nm e outra em 353 nm, o que em tese confirmam a presença de flavonoide com características para as bandas 1 e 2, sistemas cinamoil e benzoil, respectivamente, discutida anteriormente para a substância RD01.

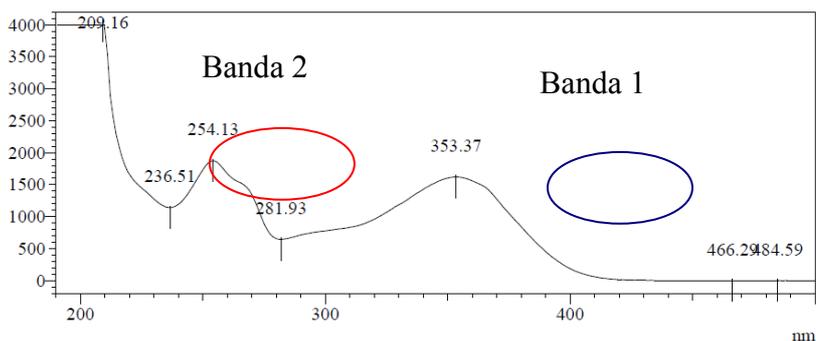


Figura 47: Espectro de UV do pico de tempo de retenção (TR) igual a 16.45 min, correspondente a amostra isolada RD02.

5.2.1 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE RD 02

5.2.1.1 Técnicas monodimensionais

A substância RD02, isolada a partir da fração butanólica (FB), apresentou-se sob a forma de pó amorfo amarelo-pálido, com uma massa total de 22 mg. A proposta estrutural para o flavonoide RD02 foi baseada nos dados de RMN de ^1H e HMBC e COSY obtidos em $\text{DMSO-}d_6$ (400 MHz). Com base nesse espectro foi possível sugerir a presença da isoramnetina-3-O-raminosídeo (figura 54).

Os sinais de RMN (figura 48) foram compatíveis para aglicona isoramnetina, a mesma correspondente a RD01, também isolada neste trabalho de dissertação (figura 41). A tabela 11 mostra a comparação entre os dados obtidos para RD01, RD02 com os da literatura.

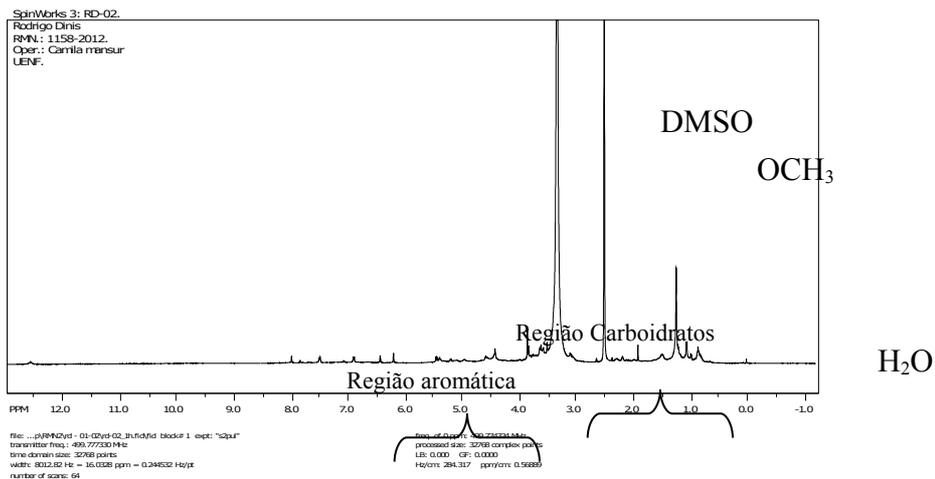


Figura 48: Espectro 1de RMN 1H (499,77 MHz) de RD02 (DMSO- d_6)

Em 12,59 ppm está situado um singles largo, o qual indica a presença de um hidrogênio de função hidroxila na posição 5 da aglicona, em ligação de hidrogênio com a carbonila em 4 (figura 49).

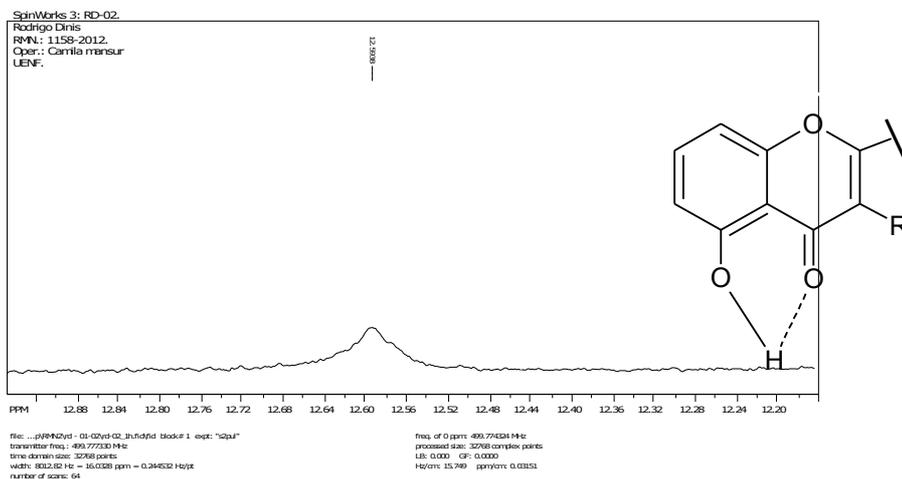


Figura 49: Expansão da faixa de δ 12,95 a δ 12,20 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.

O sinal duplo observado na região de 6,21 ppm (d; J 1,15= Hz) corresponde ao H-6 que acopla com o sinal em 6,44 ppm (d; J = 1,50 Hz) referente ao H-8 (figura 50).

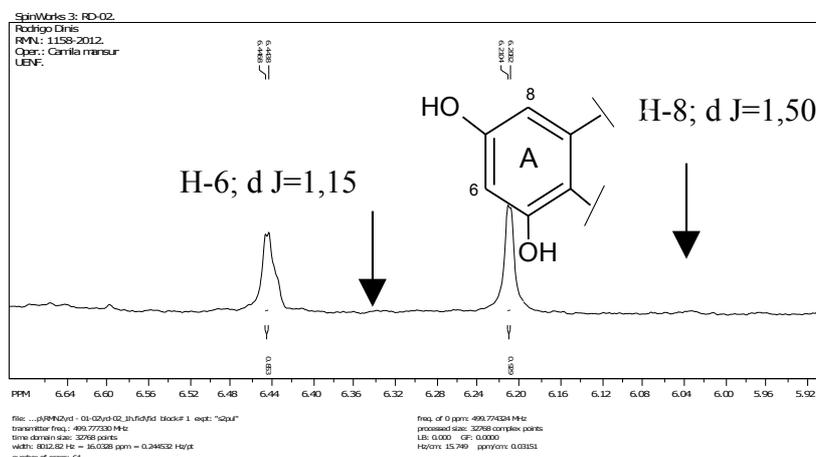


Figura 50: Expansão da faixa de δ 6,65 a δ 5,95 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.

Para o anel B, foram observados sinais em 7,51 ppm (d, J = 1,4 Hz) e 7,85 ppm (d, J = 1,2 Hz) que corresponde ao H-2' e H-6'. O sinal situado em 3,85 e 7,51 ppm (dd, J =2,15/7,4Hz) corresponde ao, H-5' (figura 51).

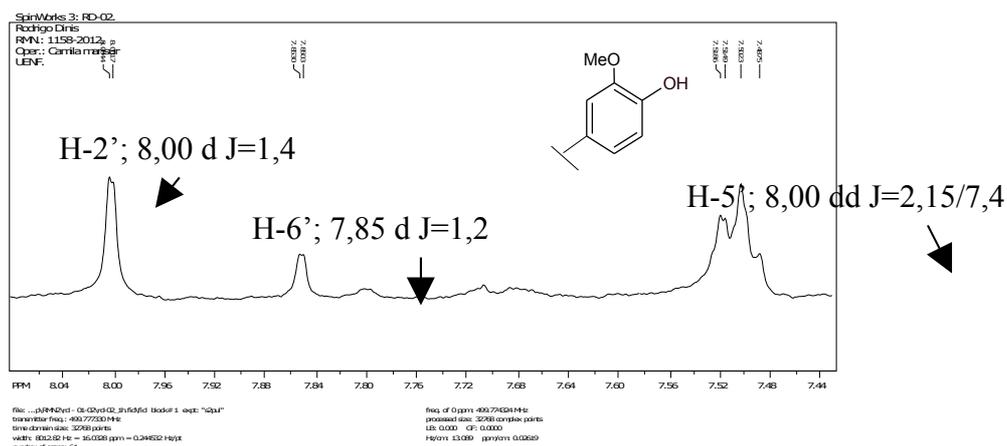


Figura 51: Expansão da faixa de δ 8,04 a δ 7,45 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.

A molécula de carboidrato ligada na aglicona, se trata de um carboidrato desoxigenado na posição 5, provavelmente de uma ramnose (figura 52).

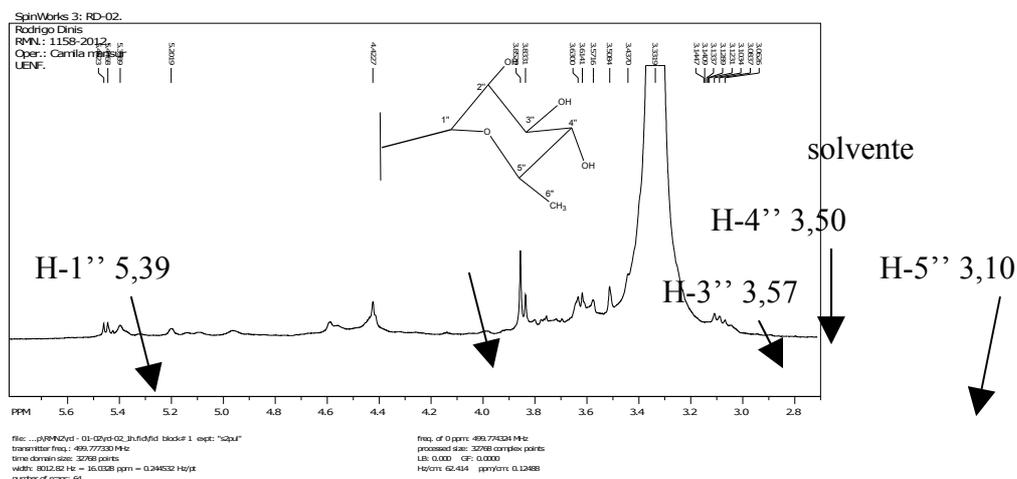


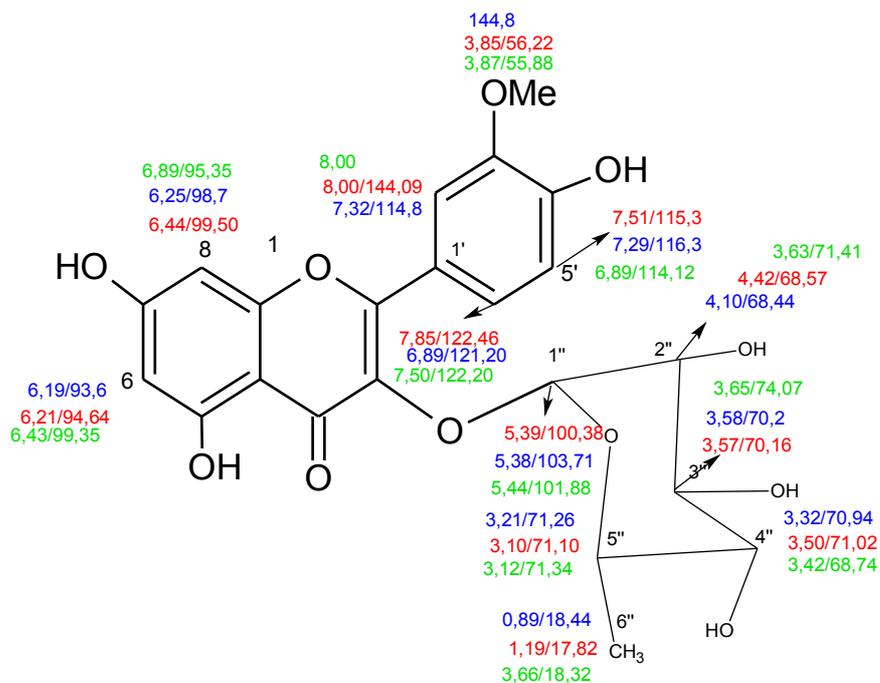
Figura 52: Expansão da faixa de δ 5,7 a δ 2,8 ppm do espectro de RMN 1H de RD02.

Tabela 11: Comparação dos sinais de 1H da amostra RD02, RD01 com os sinais da isoramnetina observados na literatura.

δ H RD02 (DMSO-d6)	δ H Literatura (Nassar et al., 2010) RD02 (DMSO-d6)	δ H RD01 (DMSO-d6)	δ H Literatura RD01 (DMSO-d6)
H-6 (6,21; d J=1,15) d	H-6 (6,19; d J=1,8) d	H-6 (6,43)	H-6 (6,22)d,
H-8 (6,44; d J=1,50) d	H-8 (6,25; d J=1,8) d	H-8 (6,89)	H-8 (6,42)d,
H-2' (8,00 d J=1,4) d	H-2' (7,32; d J=2,0) d	H-2' (8,00) s	H-2' (8,03)d
OCH ₃ (3,85)	-----	OCH ₃ (3,87)	OCH ₃ (3,97)
H-5' (7,51; d J=7,4) d	H-5' (7,29 d J=8,3) d	H-5' (6,89; d J=8,25) d	H-5' (6,91)d

H-6' (7,85; d J=1,2) d	H-6' (6,89; d J=8,3) d	H-6' (7,50; d J=7,55) d	H-6' (7,61)dd
H-1'' (5,39) s	H-1''(5,38) s	H-1'' (5,44; d J=7,55) d	H-1'' (5,22)d
H-2''(4,42) s	H-2'' (4,10) s	H-2''(3,63)	H-2'' (3,82)
H-3''(3,57) s	H-3''(3,58) s	H-3'' (3,65)	H-3''(3,55)
H-4'' (3,50) s	H-4'' (3,32) s	H-4'' (3,42)	H-4''(3,79)
H-5'' (3,10) s	H-5'' (3,21) s	H-5'' (3,12)	H-5''(3,66)
H-6'' (1,19) S	H-6''(0,89) s	H-6'' (3,66)	H-6''(3,47)

Dessa forma, com os sinais de ^1H obtidos por este espectro e comparado com os dados da literatura, se pode sugerir que a estrutura da aglicona RD02 é a isoramnetina-3-O-raminosídeo(Figura 53).



RD02

Literatura

RD01

Figura 53: Estrutura da isoramnetina-3-O-raminosídeo (RD01) comparada com os dados da literatura (Nassar et al., 2010).

5.1.2.2 Técnicas bidimensionais

5.1.2.2.1 RMN HSQC

A técnica de HSQC foi empregada para se obter a correlação direta entre os sinais de RMN ^1H e RMN ^{13}C , os dados obtidos foram comparados com os da literatura e também com RD01, isolado neste trabalho (tabela 12)

Devido a pouca massa da amostra RD02 não foi possível fazer análise de C13, obtendo assim seus sinais pelo HSQC (tabela 12).

Tabela 12: Comparação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ da amostra RD02 e os sinais da isoramnetina observados na literatura

Posição	$\delta^{13}\text{C}$ RD02 (DMSO-d6)	$\delta^{13}\text{C}$ Literatura (Nassar et al., 2010) RD02 (DMSO-d6)	$\delta^{13}\text{C}$ RD01 (DMSO-d6)	$\delta^{13}\text{C}$ Literatura (DMSO-d6)
6	94,64	93,6	99,35	99,0
8	99,50	98,7	95,35	95,13
2'	114,07	114,8	-----	-----
OCH ₃	56,22	-----	55,88	88,17
5'	115,39	116,3	114,12	116,2
6'	122,46	121,20	122,56	122,1
1''	100,38	103,71	101,88	102,0
2''	68,57	68,44	71,41	71,2
3''	70,16	70,2	74,07	73,1
4''	71,02	70,94	68,74	68,1
5''	71,10	71,26	72,34	73,7
6''	17,82	18,44 – CH ₃	18,32	17,7

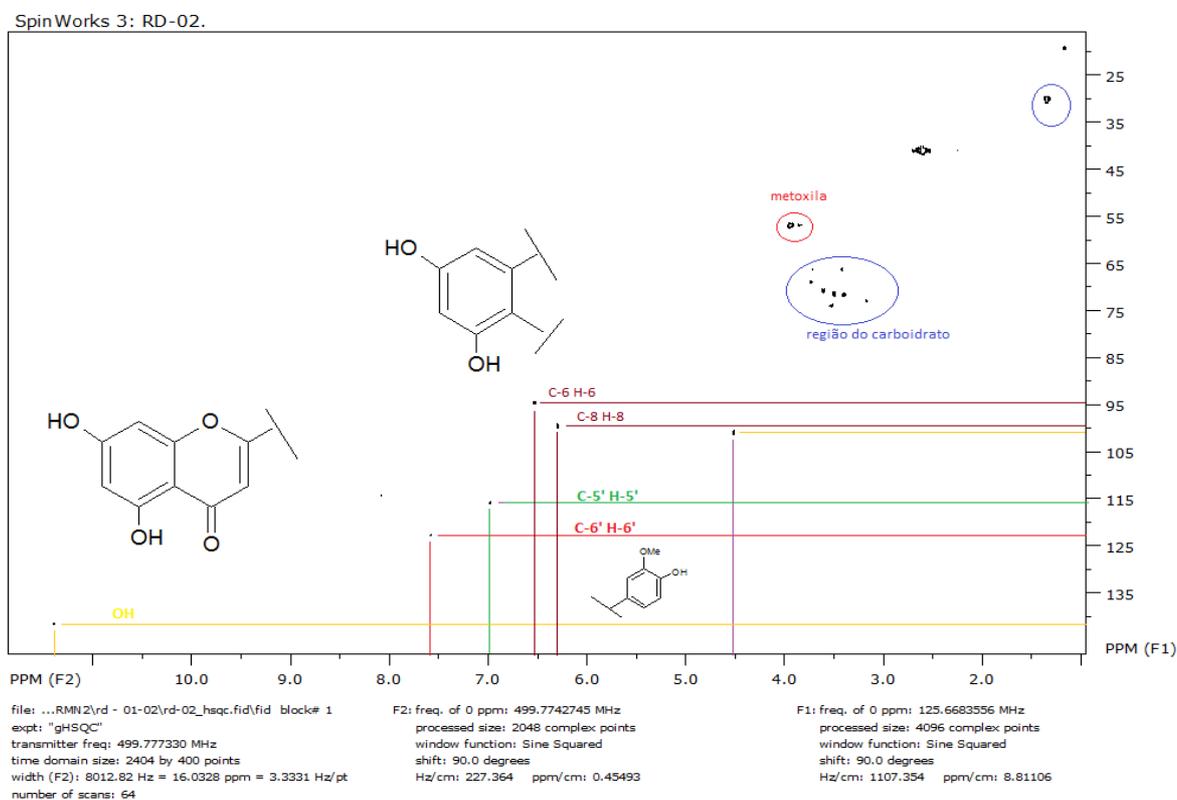
Os dados do espectro de HSQC permitiram estabelecer a correlação direta entre os núcleos de ^1H com os núcleos de ^{13}C a eles diretamente ligados. Portanto, a partir dos dados obtidos no espectro de HSQC (figura 59), foi possível estabelecer os deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono para a aglicona e os açúcares.

Observa-se que conforme (Figura 54 e tabela 12) um sinal em 115,39 correspondente ao carbono C5' e o sinal em 122,46 para o C6'. É possível observar também que em 56,22 para metoxila ligado ao C3'.

Sinais listados na região de 60 a 100 têm características de unidades de carboidratos.

É possível observar para o anel A em 99,50 um sinal correspondente ao C8, e em 94,64 sinal para o C6.

Figura 54: Espectro de RMN-2D HMQC para RD02.



5.3 Ocorrência da aglicona isoramnetina na família Cactaceae

Os compostos fenólicos são uma grande e diversificada classe de compostos que estão presentes nas plantas e são importantes na dieta humana. Nos últimos anos, tem havido um crescente interesse nestes compostos devido ao papel que podem ter na prevenção de algumas doenças. Os compostos fenólicos oriundos de fontes vegetais são denominados de fitoquímicos, sendo metabólitos secundários das plantas e caracterizam-se por possuírem um ou mais anéis aromáticos e um ou mais grupo hidróxilo. Estes compostos estão divididos em classes consoantes ao número de anéis presentes na sua estrutura (Araújo *et al.*, 2011; Ferguson, L *et al.*, 2001).

Nesta revisão, as substâncias fenólicas receberam destaque, de acordo com o perfil do trabalho, com ênfase nos flavonoides, que foram isolados, ambas com aglicona (figura 55). O único gênero que apresenta relatos de isoramnetina isoladas em suas espécies é a *Opuntia*: *Opuntia humifusa* Raf., *Opuntia ficus indica*, *Opuntia ficus indica* var. *saboten*, *Opuntia monacantha*, *Opuntia Leucotricha*, *Opuntia robusta*, *Opuntia tapon*; *Opuntia macrorhiza*. (Jae *et al.*, 2013; Semedo 2012; Tamer *et al.*, 2011; Leo *et al.*, 2010; Ligia *et al.*, 2010; Teresita *et al.*, 2010; Muhammad *et al.*, 2006).

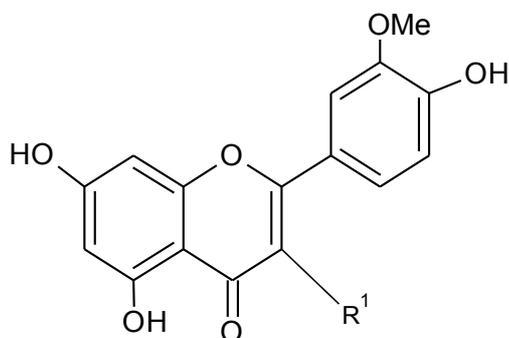


Figura 55 : esqueleto de uma isoramnetina

Para a substância isolada neste trabalho a (RD01) Isoramnetina-3-O-ribosídeo (figura 56)foi observada em outras espécies também de *Opuntia* : *O. ficus indica*, *O. monacantha* e *O. macrorhiza*. (Semedo 2012; Tamer *et al.*, 2011; Teresita *et al.*, 2010).

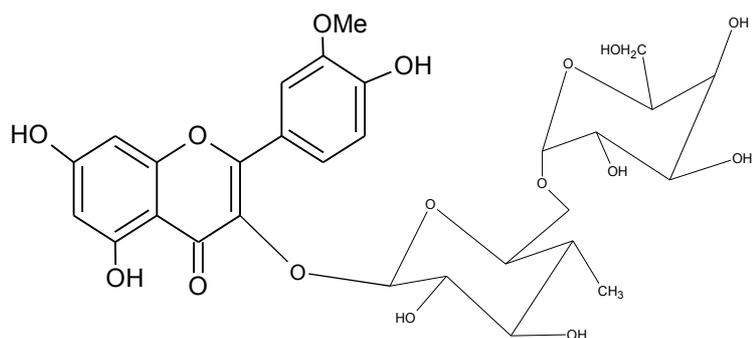


Figura 56: estrutura da isoramnetina-3-O-rubinosídeo

Foram Observados também a isoramnetina-3-O-raninosídeo (RD02) (figura 57) nas espécies de Cactaceae: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia macrorhiza* e *Opuntia leucotricha* (Semedo 2012; Teresita et al., 2010; Muhammad et al., 200).

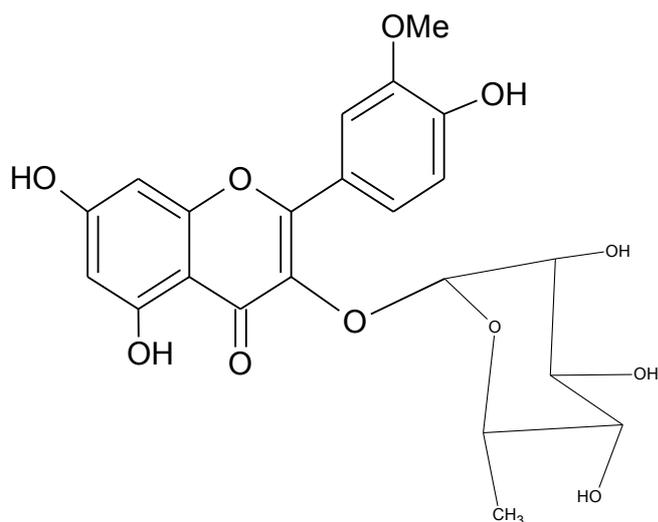


Figura 57: Estrutura Isoramnetina-3-O-raninosídeo

Desta forma, fica claro que o gênero *Opuntia* é aquele que contribui até o momento com estudos que privilegiam o isolamento desta aglicona, 8 espécies avaliadas, e destas 4 espécies possuem carboidratos em sua estrutura compatíveis com aqueles verificados nesta dissertação de mestrado. Todavia a proposta estrutural para as duas substâncias isoladas neste trabalho faz com que estas sejam inéditas para a espécie *Cerus farnambucensis* – manacaru.

5.4. Atividade Antioxidante

Frutas e vegetais contêm uma grande variedade de substâncias importantes para a saúde (Yahia, 2010), além dos principais constituintes alimentares como, proteínas, gorduras, hidratos de carbono e micronutrientes, vitaminas, minerais e oligoelementos. Atualmente, vem crescendo a procura por fontes naturais que fazem parte da dieta humana, devido aos possíveis efeitos negativos dos aditivos alimentares para a saúde humana, e aliado a isto um aumento da preocupação dos consumidores com a alimentação ao longo dos anos (Yahia e Mondragon-Jacobo, 2011; Lachman, et al., 2010; Zhang, et al., 2010,).

Diversos trabalhos sugerem que dietas ricas em fitoquímicos podem reduzir a incidência de doenças do coração, alguns tipos de câncer, e algumas desordens neurológicas (Arts e Hollman, 2005), devido à sua capacidade de sequestrar os radicais livres produzidos no organismo. Tais radicais podem ocasionar a ruptura da membrana celular e DNA, causando mutações e outras doenças (Reynertson, et al., 2008).

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Porém, o metabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais. Assim, oxidantes são substâncias sintetizadas pelo metabolismo normal do organismo e, se não controlados, podem provocar danos extensivos (Roesler et al., 2007; Mccord, 1994).

O estresse oxidativo pode causar uma grande variedade de doenças incluindo a doença de Alzheimer e doença de Parkinson, diabetes, doença cardiovascular, artrite reumatoide, o cancro e outras doenças (Hassanbaglou et al. 2012; Simonian, 1996).

Na tentativa de se combater o acúmulo de radicais livres no organismo, os quais ocasionam o estresse oxidativo, substâncias com o objetivo de atuarem como agente que retardam ou previnem a oxidação de outras moléculas, são chamadas de antioxidantes.

Há um interesse crescente por antioxidantes naturais como, por exemplo, os polifenóis presentes em fontes vegetais e produtos alimentícios, o que poderia ajudar a evitar danos oxidativos (Medina-Torres *et al.*, 2011; Silva et al., 2005)

Compostos fenólicos derivados de plantas provavelmente têm funções antioxidantes, estes compostos têm sido descritos como sequestradores dos

radicais livres provenientes do oxigênio, doando um átomo de hidrogênio, ou um elétron para o radical (Wanasundara e Shahidi, 1998).

Com este intuito, se verificou a capacidade do extrato aquoso e suas frações no sequestro do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazila) (tabela 13). Vale ressaltar que os testes foram realizados em triplicata, e aqui estão apresentados as médias aritméticas e o desvio padrão. O padrão utilizado neste trabalho foi BHT (Butil-hidroxi-tolueno) (Bernardes, 2010; Heim, 2002).

De acordo com Ross e Kasum (2002), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é determinada pela sua estrutura, em especial com a facilidade com que um átomo de hidrogênio a partir de uma hidroxila do anel aromático pode ser doado para um radical livre. Além disso, o potencial antioxidante também está relacionado com a polaridade, natureza e posição dos grupos constituintes na estrutura dos compostos fenólicos (Fabri, 2008).

Tabela 13: Atividade antioxidante do extrato aquoso, da sua partição, do sobrenadante e do BHT.

Amostras	Concentrações		
	1000 µg/mL (%)	100 µg/mL (%)	10 µg/mL (%)
EMA	81,7±1,4	17,3±1,9	5,3±1,1
SM	90,2±1,9	24,3±2,4	16,1±1,9
FH	40,8±3,8	9,8±1,6	4,3±3,4
FD	**	**	**
F AcetEt.	63,0±2,0	19,9±6,2	5,6±2,1
FB	90,4±0,5	30,4±3,6	6,6±1,7
BHT	100 ± 0,9	52,1 ± 2,2	43,6 ± 1,5

** Massa insuficiente para o experimento. Média ± Desvio Padrão (n=3).

Pode-se notar atividade antioxidante para o extrato aquoso, suas partições e sobrenadante, o EMA, SM, FB, na três concentrações testadas (1000, 100 e 10 µg/ml). Sendo na maior concentração (1000 µg/mL), estes apresentam atividade superior a 80%.

Quando comparados à Fração Butanólica (FB) com os demais conjuntos, observa-se que a fração apresenta atividade antioxidante superior nas três concentrações, podendo ser colocado em uma escala de sequestro de radicais livre assim: BM> SM> EM> FAE> HM (figura 59).

Quando a fração butanólica (FB) é comparada com o padrão BHT ultrapassa os 90 % na concentração de 1000 µg/ml, já na concentração de 100 µg/ml obteve um resultado satisfatório em comparação com o BHT, mas superior a outras amostras. Na concentração de 10 µg/ml não obteve resultados aceitáveis em comparação com BHT, mas obteve resultado mediano em comparação com a maioria das amostras analisadas.

Observando o resultado do sobrenadante (SM) da partição, pode-se observar que obteve resultados inferiores ao padrão BHT, mas ultrapassa os 90% de sequestro de radicais livres, no entanto em comparação na concentração de 100 µg/ml obteve um resultado satisfatório em comparação com as outras amostras e na concentração de 10 µg/ml obteve resultado superior às demais amostras analisadas.

Já a fração Acetato de Etila (F_{Acet.Et.}), obteve resultados inferiores ao padrão e a demais amostras na concentração de 1000 µg/ml, mesmo assim obteve resultado superior a 60% de sequestro de radicais livres, já na concentração de 100 µg/ml também obteve resultados inferiores, porém significativos.

Já o Extrato Aquoso (EMA) obteve um potencial de sequestro de radicais livres superior a 80% em comparação com o padrão BHT na concentração de 1000 µg/ml.

A fração Hexânica (FH) obteve resultados pouco satisfatórios levando em conta o padrão BHT e as outras amostras em todas as concentrações, visto que obteve resultado superior a 40% na concentração de 1000 µg/ml.

Mediante estes resultados é possível constatar o potencial antioxidante exibido pelas amostras e também sua comparação com a atividade sequestraste de radicais livres como o padrão BHT.

A figura 9 mostra o potencial antioxidante do extrato metanólico e as frações, bem como dos padrões fenólicos.

Nesse sentido, a atividade sequestraste de radicais livres pelos flavonoides relaciona-se com sua estrutura, e os flavonoides que se apresentam hidroxilados, principalmente na posição 3-OH, 5-OH, 7-OH, 4'-OH e 3'-OH, são os que exibem maior atividade antioxidante (figura 58) (Ross e Kasum, 2002).

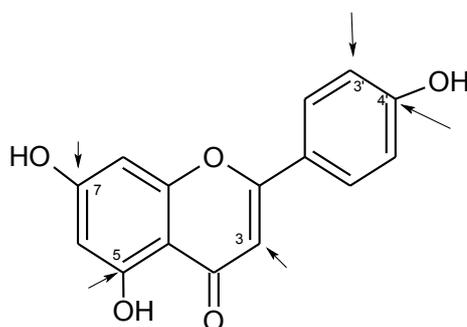


Figura 58: Estrutura química da apigenina, mostrando o grupamento OH nos carbonos 5, 7 e 4'.

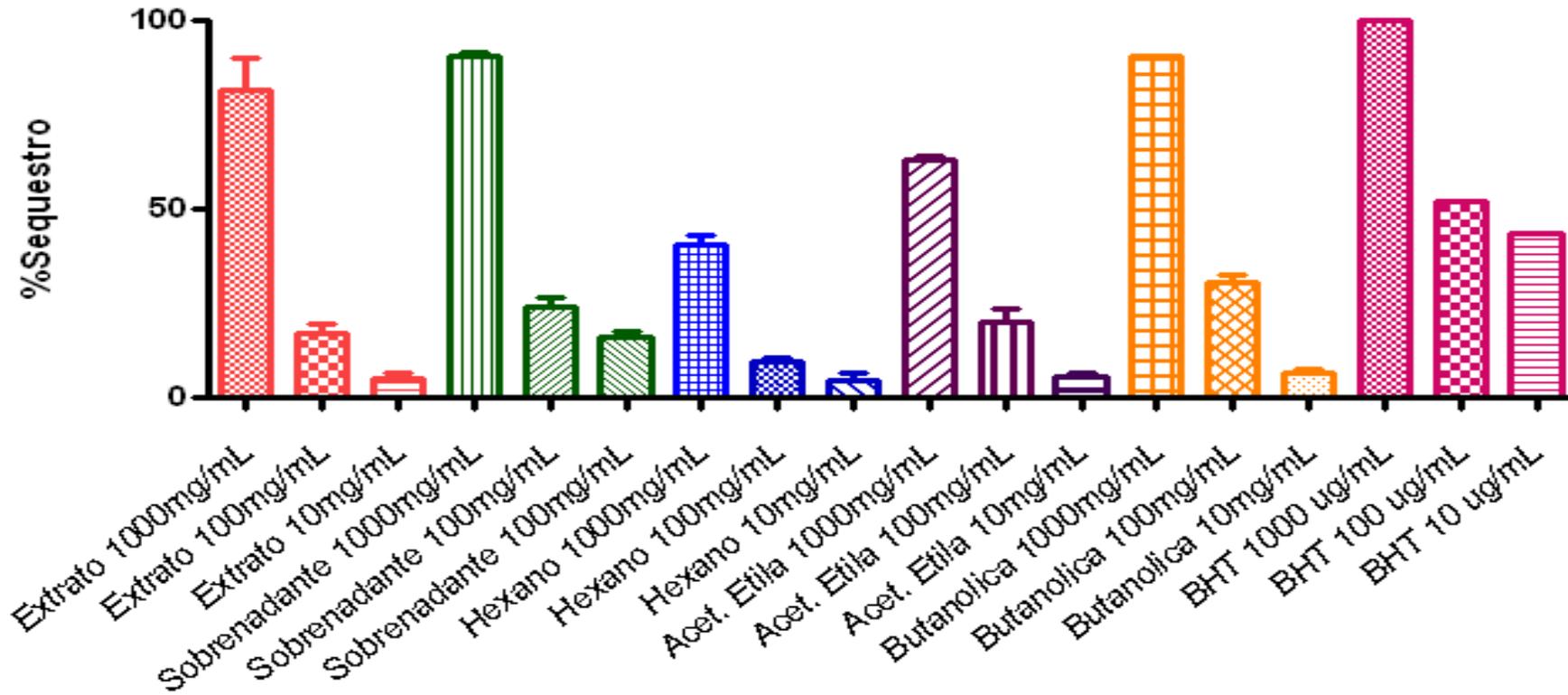
Oliveira et al., (2009), corroboram com os aqui apresentados utilizando a mesma espécie, o *Cereus fernambucensis*, foram avaliados o extrato aquoso, a fração e as subfrações das cascas dos frutos quanto ao perfil sequestrador de radicais livres frente ao radical DPPH, verificou-se para o extrato 90% de sequestro de radicais livres para a concentração de 1000 µg/mL (%), para a fração Hexânica 63 %, para a fração acet Et. 80%, e para a fração butanólica 80%.

Osorio-Esquivel et al., (2011), mostraram que no extrato metanólico do fruto da espécie *Opuntia joconostle (cactaceae)*, obteve-se cerca de 62 % de sequestro de radicais pelo método de DPPH, a partir do endocarpo do fruto, para o pericarpo verificou-se cerca de 59% de sequestro e já para o mesocarpo em torno de 42% de sequestro de radicais livres.

Em comparação com os resultados neste trabalho que a partir das cascas (pericarpo) de *Opuntia joconostle*, nota-se que o sequestro de radicais livres pelo método de DPPH, se manteve entre 40 a 90% de ação antioxidante, estes dados são muito semelhantes àqueles mostrados para manacaru.

Behnaz Hassanbaglou et al., (2012), expressaram a concentração em que 50% do DPPH foi sequestrado. Quatro tipos de extratos foram preparados a partir da espécie vegetal *Pereskia bleofolha*: extrato metanólico 27%; extrato Hexânica 24%; extrato etanolico 54% e o extrato em acetato de etila 16%. Dentre este, o extrato etanólico foi aquele que apresentou os melhores resultados, isto possivelmente porque é neste extrato que estão o maior número de moléculas polares.

Figura 59: Atividade antioxidante extrato, sobrenadante e frações, em comparação com o padrão de referência BHT (n=3).



5.5. Determinação do Teor de Taninos

Os taninos são substâncias provenientes do metabolismo secundário de fontes vegetais e estão presentes na maioria das plantas. Todavia, sua concentração nos tecidos vegetais pode variar, dependendo da idade, do tamanho da planta, da parte coletada, da época ou, ainda, do local de coleta (Monteiro et al., 2005).

A presença de taninos na composição química vegetal muitas vezes está relacionada à ação biológica descrita para uma espécie, sendo que a distribuição maciça de taninos está restrita a alguns táxons, o que faz com que a planta apresente uma grande produção de representantes dessa classe química em detrimento de outros metabólitos (Luna, 2006).

Já os taninos condensados, como a procianidina, por exemplo, (Figura 60), são encontrados em maior concentração e com maior relevância em alimentos (Degáspari et al., 2005). Compreendem um grupo de polihidroxi-flavan-3-ol e apresentam uma estrutura semelhante aos flavonoides, com coloração que varia do vermelho ao marrom (Scholfield et al., 2001).

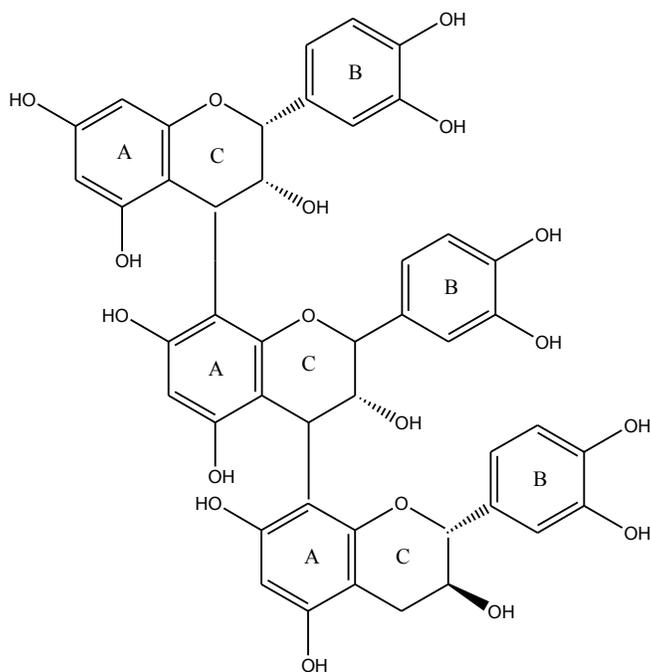


Figura 60: Estrutura química da procianidina, um exemplo de tanino condensado.

Os taninos condensados possuem um padrão de distribuição muito amplo, sendo encontrado em diversas famílias de angiospermas como nas Annonaceae (Paiva et al., 2002). A Tabela 14 mostra os teores de taninos condensados e hidrolisáveis nas amostras oriundas da polpa dos frutos.

Tabela 14: Dados obtidos da análise do teor de taninos do extrato aquoso e metanólico da casca do fruto de manacaru.

Amostras	Taninos condensados mg/ml
Extrato aquoso da casca do fruto de Manacaru	-----
Extrato Metanólico da casca do Fruto de manacaru	3,887

De acordo com esses resultados pode-se observar que os teores de taninos condensados concentram-se no extrato aquoso, não sendo detectados teores de taninos hidrolisáveis.

Segundo Degáspari et al. (2005), a presença de pequenas concentrações de taninos nos frutos confere-lhes características sensoriais desejáveis. Todavia, quantidades elevadas conferem aos frutos e outros alimentos características adstringentes. Esta sensação de adstringência é provocada pela propriedade que os taninos possuem de precipitar proteínas e assim, quando em contato com as proteínas da saliva, formam um complexo insolúvel que popularmente se caracteriza pela sensação adstringente.

Negesse et al., (2009), utilizando somente palmas (folhas) das cactaceae da espécie *Opuntia ficus-indica*, para taninos totais 21 g/kg de tecido seco e para taninos condensados não obtiveram resultados significativos.

Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho exibem um valor considerável no teor de taninos presentes no extrato aquoso do fruto de manacaru,

Cereus fernambucensis para membros de cactaceae.

5.5.1. Determinação do Teor de Fenóis

O método de Folin-Denis permite quantificar flavonoides, antocianinas e compostos fenólicos presentes nas amostras (Moreira, 2000; Oliveira et al, 1994). A Tabela 15 mostra o teor de fenóis totais do extrato aquoso e metanólico das cascas dos frutos de manacaru.

Tabela 15: Dados obtidos do teor de fenóis totais da amostra de *Cereus feramambucensis* - manacaru

Amostras	Fenóis mg/ml
Extrato aquoso da casca do fruto de Manacaru	13,13
Extrato Metanólico da casca do Fruto de manacaru	24,78

Foram detectados teores de fenóis totais tanto no extrato aquoso das cascas dos frutos de Manacaru, quanto no extrato metanólico das cascas dos Frutos de manacaru, sendo que se pode notar que há uma concentração dos teores de fenóis totais no extrato metanólico das cascas dos frutos de manacaru maior.

Segundo Liliana (2011), foi detectados em seu estudo para o extrato metanólico da espécie *Opuntia ficus-indica* a concentração de fenóis totais de 34,2 g / mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de amostra seca, já Corral-Aguayo, (2008) em outras pesquisas relatou uma maior quantidade de fenóis totais para variedades do gênero *Opuntia*. Lee e colaboradores (2011) relataram 41,40 g / mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de amostra seca, para a espécie *Opuntia ficus-indica*. Para a espécie *Opuntia ficus-indica* 30,8 g / mg de equivalentes de

ácido gálico, por grama de amostra seca de fenóis totais, sendo que foi utilizado para este estudo a metodologia de Folin Ciocalteu .

Herrera-hernanández (2011), utilizando o método de Follin ciacalteu para avaliação quanto ao teor de fenóis totais observou em frutos verdes e maduros, resultados diferentes para cada tipo de fruto. Para os frutos maduros foram verificados cerca de 45g/ mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de amostra seca, cerca de 80% a maioria para fenóis totais, que para os frutos verdes. Ehlenfeldt & Prior, (2001) obtiveram resultados de 7,3 g / mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de amostra seca.

Os resultados apresentados por Necchi et al., (2012), indicam que o extrato de *Nopalea cochenillifera* - *Cacataceae* apresenta, um conteúdo de 29,62%, utilizando a metodologia de Folin Ciocalteu.

Yahia e Mondragon-Jacobo (2011), encontraram para várias espécies de *cactaceae* teores diversos de fenóis totais, para *Oputia megacantha* e *Oputia robusta*, mostraram o maior teor de fenólicos totais, cerca de 130 mg de ácido gálico / g FW o menor conteúdo fenólico foi encontrado em *O. ficus-indica* com apenas 10 mg de ácido gálico / g FW.

Estudos apontam que a correlação entre a capacidade antioxidante e o teor de taninos e fenóis totais pode estar sujeita ao método selecionado e também às características hidrofóbicas ou hidrofílicas do sistema teste e dos antioxidantes avaliados (Roesler et al., 2007).

5.6 Avaliação do Teor de Açúcares

Os açúcares são os principais sólidos solúveis presentes nas frutas, entretanto outras substâncias solúveis também têm participação no teor de sólidos solúveis, por exemplo, minerais solúveis, ácidos, álcoois, dentre outras.

Nas frutas, os açúcares (frutose, glicose e sacarose) são os carboidratos predominantes. os açúcares ou carboidratos são de grande abundância na natureza e atuam principalmente como fonte e reserva energética para o metabolismo, sendo necessários na alimentação. A classificação dos carboidratos reflete o fato de que todos se originam a partir da glicose, produzindo unidades mais simples e mais

complexas. Os carboidratos simples mais encontrados nos alimentos são a glicose, e a frutose, sacarose, lactose e, entre os mais complexos, o amido (Chitarra, 2000).

Alguns estudos demonstram haver aumento dos teores de açúcares durante o crescimento da fruta, e outros nos quais não foi detectada alteração na concentração de açúcares durante o desenvolvimento da fruta.

Na análise de açúcares redutores na polpa e na casca do fruto de *Cereus fernambucensis* – manacaru foram injetados 2 padrões, a glicose (figura 61) e a frutose (figura 62) no fruto de manacaru, com a finalidade de se quantificar esses açúcares nas frutas da espécie vegetal.

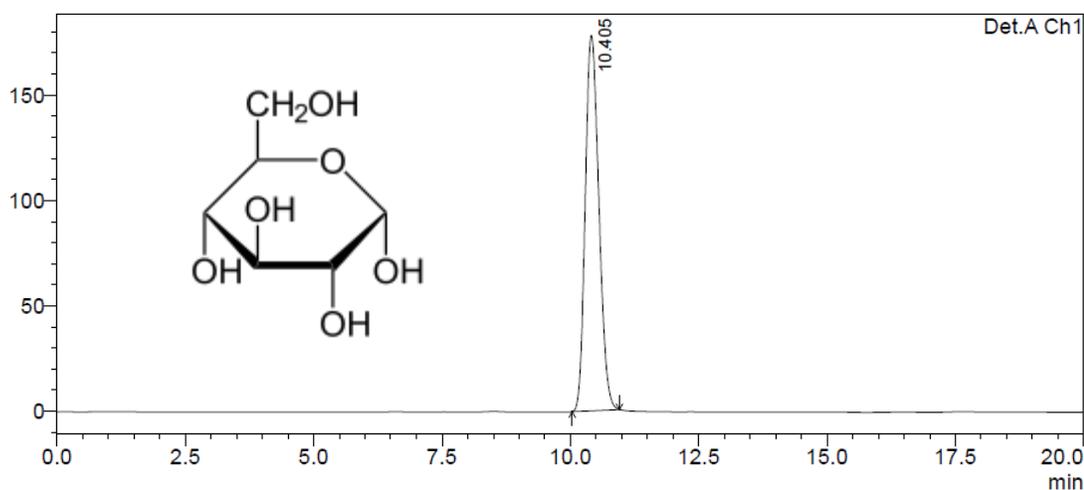


Figura 61: Cromatograma 1 perfil do padrão de glicose avaliado por CLAE

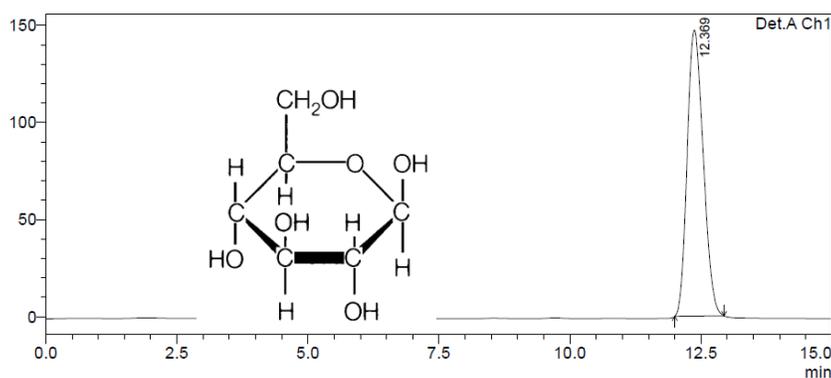


Figura 62: Cromatograma 2 , perfil do padrão de Frutose(mg/ml) analisado por CLAE.

Nas Figuras 61 e 62 é possível notar que os picos estão com boa base e bem finos, significando que os padrões estão conforme especifica a literatura, podendo também observar que há somente um pico em cada cromatograma significando que a análise por CLAE correu conforme literatura (Collins et al., 2006).

Na figura 63 encontram – se os cromatogramas da análise do teor de açúcares da polpa e da casca dos frutos de *Cereus fernambucensis* - manacaru, onde é possível verificar os picos correspondentes tanto da glicose como da frutose, também na tabela 10 é possível ver o tempo de retenção e sua área dos citados açúcares.

Figura 63: Cromatograma da polpa de *Cerus fernambucensis* – manacaru para avaliação de açúcares.

Desta forma, a partir da curva padrão dos açúcares elaborada (descrita

No item 4.7, Página 49 foi possível quantificar esses dois açúcares presentes tanto na casca quanto na polpa do manacaru onde os resultados obtidos estão mostrados na tabela 16.

AMOSTRAS	g/ 100g de glicose	g/ 100g de frutose
Casca do fruto de manacaru	11,57 g/100g	12,7 g/100g
Polpa do fruto de manacaru	33,96 g/100g	35,91 g / 100g

TABELA 16: valores de glicose e frutose obtidos a partir da casca e da polpa do manacaru

Conforme estudos verificados por Oliveira et al., (2011), os açúcares presentes no fruto são encontrados em concentrações de 7,2754% e tal valor está em conformidade com a literatura, cujos autores revelam números que variam de 10,0 a 17,0%, e comparado com estes resultados apresentam valores inferiores, mas colaboram para o mesmo em comparação da casca e significativamente inferior para polpa (Manica,2002; Sepulveda & Saenz ,1990; Sawaya et al.,1983 ; Pimenta 1990).

Em Silva et al., (2009), encontram-se os valores médios de açúcares a partir da polpa e da casca de frutos de mandacaru , comparando os resultados obtidos para a polpa e casca, constataram-se diferenças percentuais, esta foi significativa de modo que para polpa se observa 5,76 % e para casca 1,53 %, respectivamente. Estes dados em comparação com o trabalho aqui apresentado mostram percentuais significativamente superiores, tanto na casca, quanto na polpa.

Os resultados obtidos por Oliveira et al. (2004), a frutos do mandacaru, mostram um menor teor de açúcares redutores na polpa, e maior na casca, cerca de 9,54 (% glicose),este dados corroboram com os obtidos neste trabalho a partir de *Cerus fernambucensis* (manacaru).

5.7 Avaliação do Teor de Vitamina C

O ácido ascórbico (vitamina C) (figura 62) possui grande importância fisiológica, pois atua como antioxidante, na reciclagem de tocoferóis e na produção e manutenção de colágeno e na redução do ferro-férrico no trato intestinal. Essas características fazem com que a vitamina C seja recomendada como suplementação alimentar. Além disso, é bastante utilizada na estabilização da cor e sabor de uma ampla variedade de frutas processadas na forma de sucos, polpas e outras bebidas (Elhadi et al. 2011, Yahia & Ornelas-Paz, 2010).

O efeito protetor de frutas e vegetais é geralmente atribuído a seus constituintes antioxidantes, incluindo vitamina C (ascórbico ácido), vitamina E (a-

tocoferol), os carotenoides, glutationa, flavonoides e ácidos fenólicos, assim como outros compostos (Yahia, 2010; Sies & Stahl, 1995).

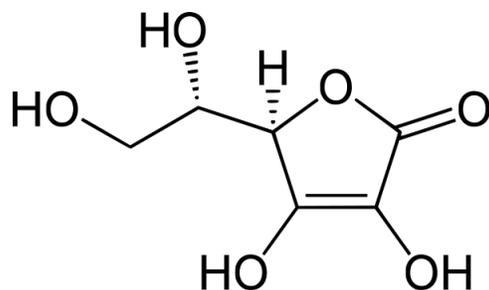


Figura 64: estrutura química do ácido ascórbico.

Para Sávio (1987), a vitamina C é também responsável pelo sabor de determinadas variedades de frutas de alguns cactos, e estes se assemelham a de morango, melancia, melão, banana passa, ou de cítricos. Os cactos mais especificamente os frutos são uma fonte de nutrientes e vitaminas (Joseph, 2004).

Em espécie do gênero *Opuntia*, o conteúdo de vitaminas C altera de acordo com a variedade, o tipo de tecido, e o estágio de maturação (Moussa-Ayoub et al. 2011)

A ingestão diária recomendada de vitamina C para adultos é de 60 mg / dia (PADH, 1994), e, por conseguinte, uma porção de 100 g da baga do cacto puro pode contribuir com cerca de 51,9% a 95% da ingestão diária recomendada de vitamina C (Gebhardt et al., 2008)

Como se pode observar na tabela 17, foi possível obter para as cascas dos frutos de *Cereus fernambucensis* – manacaru a concentração de 178 mg/100g de amostra, já para a polpa dos frutos se verifica 22,94 mg/100g de Vitamina C.

AMOSTRAS	TEOR DE VITAMINA C mg/ 100G
Casca do fruto de manacaru	178,00 mg / 100g
Polpa do fruto de manacaru	22,94 mg/ 100g

Tabela 17: teor de vitamina C (mg / 100g) na casca e polpa de *Cereus fernambucensis* – manacaru.

Como se pode observar na tabela 11, foi possível obter para as cascas dos frutos de *Cereus fernambucensis* – manacaru a concentração de 178 mg/100g de amostra, já para a polpa dos frutos se verifica 22,94 mg/100g de Vitamina C.

De acordo com Joseph (2004), os cactos da espécie *Opuntia lindheimeri*, *Opuntia stricta var. strictaem*, em relação ao conteúdo total de ácido ascórbico variaram 10-111 mg de peso / g das cascas dos frutos.

José A. et al. (2010), verificam que o teor de ácido ascórbico variou 14,5-23,3 mg/100 g de polpa dos frutos de cactaceae. A *Opuntia undulata*, apresentou 14,5 mg/100g, para a espécie *Opuntia ficus-indica*, cerca de, 18,5 mg/100g, já na espécie *Opuntia stricta* se observa 23,3 mg/100g de Vitamina C. Tais resultados quando comparados com os dados obtidos a partir da polpa dos frutos de *Cereus fernambucensis* - manacaru *que*, são inferiores, verifica-se que apenas a espécie *Opuntia stricta* corroborou com os resultados aqui apresentados.

Herrera-Hernández, et al. (2011) ao estudarem outro membro de Cactaceae, a espécie *Myrtillocactus geometrizans* apresentaram valores bem altos de vitamina C (310-380 mg / kg, FW), para os frutos maduros.

Corral-Aguayo et al., (2008) verificaram resultados semelhantes em seus experimentos, quando comparados com base de peso fresco, em que se pode notar que o teor de vitamina C de cacto (311,4-582,4 mg / kg,) é maior do que na maioria das frutas comuns, tais como ameixa (95 mg / kg), de uva (108 mg / kg), de maçã (46 mg / kg), pêssigo (10 mg / kg), banana (87 mg / kg), amora (209 mg / kg), e mirtilo (97 mg / kg).

Yahia e Mondragon-Jacobo, em suas análises utilizando CLAE verificaram para diferentes espécies de Cactaceae o teor de Vitamina C, dentre eles o maior teor de ácido ascórbico foi observado em *Opuntia robusta*, seguido por *Opuntia streptacantha* com 4000 e 2100 mg/100 g, respectivamente. Um menor teor de ácido ascórbico foi observado em *Opuntia. ficus-indica* e *Opuntia. megacantha* com níveis variando entre 1200 a 1400 mg/100 g.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho se avaliou o perfil químico das cascas dos frutos de manacaru (*Cerus fernambucensis* - Cactaceae), a medida da quantificação da atividade antioxidante, o que em tese pode justificar seu uso popular como antioxidante e um possível alimento funcional. Para a obtenção do extrato bruto, as cascas dos frutos de manacaru foram separadas das sementes e submetidas a extração aquosa e metanólico. Os fracionamentos cromatográficos foram utilizados com o intuito de se obter uma substância purificada e para o conhecimento do perfil químico do extrato. Após a purificação das substâncias isoladas, estas foram enviadas ao RMN para sua elucidação estrutural. O extrato, sobrenadante, frações do extrato aquoso e padrões químicos foram avaliados quanto à sua atividade antioxidante. Foram realizadas as análises de taninos e fenóis totais do extrato aquoso e metanólico do manacaru. Foram avaliados o teor de vitamina C das cascas e polpa do manacaru por titulação. Também foi avaliado o teor de açúcar das cascas e da polpa do fruto de manacaru por CLAE. As principais conclusões do estudo podem ser assim resumidas:

6.1 Avaliação do Perfil Químico

O extrato aquoso das cascas dos frutos de manacaru, após vários processos cromatográficos, quando avaliado por CCD e por CLAE, apresentou nos cromatogramas referentes às substâncias isoladas (RD01) e (RD02) oriundas da fração butanólica a indicação da presença dos flavonoides. Os cromatogramas dessas amostras, apresentaram um pico majoritário em 16,46 para a (RD01) e 16,45 para (RD02), essas foram enviadas para RMN, e elucidadas as suas estruturas, de acordo com dados espectroscópicos, foi identificada como: (RD01) isoramnetina-3-O-rubinosídeo e para (RD02) isoramnetina-3-O-raminosídeo.

6.2 Avaliação da Atividade Antioxidante

Foram avaliados o Extrato Aquoso (EMA), o Sobrenadante (S) e as frações oriundas do extrato aquoso, Fração hexânica (FH), fração acetato de etila (FAcet.Et.), fração butanólica (FB) e o padrão (BHT). O sobrenadante (S) e a fração butanólica, apresentaram uma capacidade antioxidante superior a 90 %, já o Extrato acima de 80%, a fração acetato de etila acima de 60% de sequestro de radicais livres.

6.3 Avaliação do Teor de Taninos e Fenóis Totais

Observa-se que os teores de taninos condensados concentram-se no extrato aquoso, não sendo detectados teores de taninos hidrolisáveis.

Foram detectados teores de fenóis totais tanto no extrato aquoso das cascas dos frutos de Manacaru, quanto no extrato metanólico das cascas dos Frutos de manacaru, sendo que se pode notar que há uma concentração dos teores de fenóis totais no extrato metanólico das cascas dos frutos de manacaru maior.

6.4 Avaliação do Teor de Vitamina C

Foram avaliados o teor de Vitamina C das cascas dos frutos de manacaru e da polpa por titulação, e é possível observar que o teor de vitamina C do fruto de manacaru encontra-se mais concentrado na casca que na polpa. Tal resultado é significativo quando comparado a outras frutas comumente utilizadas no cotidiano como: uva, ameixa, maçã, pêssego e banana.

6.5 Avaliação do Teor de Açúcares

Na análise de açúcares redutores na polpa e nas cascas dos frutos de *Cereus fernambucensis* – manacaru foram injetados 2 padrões, a glicose e a frutose, com a finalidade de se quantificar esses açúcares nas frutas da espécie vegetal. Observou-se que os açúcares concentraram-se significativamente na polpa, isso corroborou para o conhecimento a respeito desta família.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F. Plantas da medicina popular dos Cariris Velhos Paraíba. Cidade: PNE, 1996.

AJAIKUMAR, K. B. et al. (2005). The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne. 96:171-76.

ALI, S. S., KASOJU, N., LUTHRA, A., SINGH, A., SHARANABASAVA, H., SAHU, A., BORA, U. (2009) Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41: 1–15.

ALMEIDA M. M., FLÁVIO L. H. DA S., LÍBIA DE S. C., JOSÉ C. M., ROSA M.M. F., Estudo Cinético e Caracterização da Bebida Fermentada do *Cereus Jamacaru* P. Dc. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável Grupo Verde de Agricultura Alternativa (Gvaa) Issn 1981-8203 – 2011.*

ALVES M. A. , ANDRÉA C. M. DE S., GUILLERMO. R., NONETE B. G., FRUTO DE PALMA [*Opuntia fícus-indica* (L) MILLER, Cactaceae]: MORFOLOGIA,

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, FISIOLOGIA, ÍNDICES DE COLHEITA E FISIOLOGIA PÓS-COLHEITA. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha Vol 9(1):16-25 – 2008

AMIÉ, D.; DAVIDOVIÉ-AMIÉ, D.; BESLO, D.; TRINAJSTIÉ, N. (2003) Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. Croatica Chemica Acta, 76 (1): 55 – 61.

ANDERSON D. (2000) Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. Mutation Research. 350:103-8.

ANDERSON, E. F. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon, 2001. 777p.

ANDRADE, C.T.S., MARQUES, J.G.W , ZAPPI, D.C., Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos, Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, n.3, p.36-42, 2006

ANGELO, P. M.; JORGE, N.(2007). Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 66(1):1-9.

ANJO, D. F. C. (2004) Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. Jornal Vascular Brasileiro. 3:145-54.

ANNE G. MORTENSEN, BENTE B. LAURSEN, LI-WEI LIN, ANTONIO DE LEO´ N-RODRI´GUEZ, INGE S. FOMSGAARD, ANA P. BARBA DE LA ROSA - Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.) Journal of Food Composition and Analysis 23 (2010) 525–532

ARAÚJO, J; GONÇALVES, P; MARTEL, F. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. Nutrition Research 2011. 31: 77–87.

ARAÚJO, L. F. 2004. Enriquecimento Protéico do Mandacaru sem Espinhos (*Cereus jamacaru* P.DC.) e da Palma Forrageira (*Opuntia Ficus-índica* Mill) em Meio Semi-

Sólido por Processo Biotecnológico. (Tese de doutorado) - Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande, UFCG. 175 p.

ARTS, I. C.W.; HOLLMAN, P. C. H. AM. J. Clin. Nutr. 2005, 81, 317.

ASSUMPÇÃO, J.; NASCIMENTO, M. T. 2000. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta botânica brasileira*. 14:301-315.

AWAD, M. 1993. Fisiologia Pós-Colheita de Frutos. São Paulo: Nobel, 114 p.

BAGGIO, S. R., BRAGAGNOLO, N. (2004) Validação da metodologia para determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 24:64-70.

BAGGIO, S. R.,; BRAGAGNOLO, N. (2004) Validação da metodologia para determinação simultânea, por CLAE, de colesterol e óxidos de colesterol em produtos cárneos processados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24: 64-70.

BAÑUELOS GARY S, CECIL STUSHNOFF, SPENCER S. WALSE, TATIANA ZUBER, SOO IN YANG, INGRID J. PICKERING, JOHN L. FREEMAN (2012). Biofortified, selenium enriched, fruit and cladode from three *Opuntia Cactus* pear cultivars grown on agricultural drainage sediment for use in nutraceutical foods. *Food Chemistry* 135 (2012) 9–16

BAÑUELOS, G. S. (2009). Phytoremediation of selenium-contaminated soil and water produces biofortified products and new agricultural by products. In G. S. Bañuelos & Z.-Q. Lin (Eds.), *Biofortification and development of new agricultural products* (pp. 57–70). Boca Roca FL: CRC Press.

BAÑUELOS, G. S., & LIN, Q. (2010). Cultivation of the Indian fig *Opuntia* in seleniumrich drainage sediment under field conditions. *Soil Use and Management*, 26, 167–175.

BAÑUELOS, G. S., DA ROCHE, J., & ROBINSON, J. (2010). Developing Se-enriched animal feed and biofuel from canola planted for managing Se-laden drainage waters in the Westside of central California. *International Journal of Phytoremediation*, 243–253.

BEHNAZ HASSANBAGLOU, AZIZAH ABDUL HAMID, A. M. ROHEEYATI, NORIHAN MOHD SALEH, AHMADSAHIB ABDULAMIR, ALFI KHATIB1 AND SABU M.C. (2012). Antioxidant activity of different extracts from leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(15), pp. 2932-2937, 23 April, 2012

BERNARDES, N. R. (2010) Estudo da Composição química e dos efeitos imunofarmacológicos do extrato dos frutos da aroeira (*Schinus terebenthifolius*). Tese de Mestrado - Universidade Estadual do Norte.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. (2010) Alimentos Funcionais: Uma breve revisão. *Ciência e Cultura - Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB*, v. 6, n. 2.

BORGES VC. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. In: Waitzberg DL. *Nutrição Enteral e Parenteral na Prática Clínica*. São Paulo: Atheneu; 2001.

BRACA ALESSANDRA , GELSOMINA FICO, IVANO MORELLI, FRANCESCO DE SIMONE, Brat P, Georgé S, Bellamy A, Du Chaffaut L, Scalbert A, Mennen L (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *J Nutr*. 2006 Sep;136(9):2368-73.

BRAT, P., GEORGE, S., BELLAMY, A., DU CHAUFFAUT, L., SCALBERT, A., & MENNEN, L. (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *The Journal of Nutrition*, 136, 2368–2373.

BROINIZI, P. R. B. , ANDRADE-WARTHA, E. R S., SILVA, A. M. O., NOVOA, A. J. V., TORRES, R. P., AZEREDO, H. M. C., ALVES, R. E., MANCINI-FILHO, J. (2007). Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27(4): 890-896

CALVENTE, A. M., FREITAS, M. F. & ANDREATA, R. H. P., Listagem, Distribuição geográfica e conservação das espécies de cactaceae no estado do Rio de Janeiro (2005), *rodriguésia* 56 (87): 141-162. 2005.

CAMPOS, D. A. (2008) Efeito gastroprotetor da 3,6-dimetoxi-6",6"-dimetil-[2",3":7,8]-cromenoflavona isolada de *Lonchocarpus araripensis* Bentham em camundongos e possíveis mecanismos. Tese de Mestrado – Fortaleza – CE, Universidade Federal do Ceará, 131 páginas.

CAMPOS, D. A. (2008) Efeito gastroprotetor da 3,6-dimetoxi-6",6"-dimetil-[2",3":7,8]-cromenoflavona isolada de *Lonchocarpus araripensis* Bentham em camundongos e possíveis mecanismos. Tese de Mestrado – Fortaleza – CE, Universidade Federal do Ceará, 131 páginas.

CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; ALBERTON, E. H.; FIGUEIREDO, M. S. R. B. *MINI-REV. MED. CHEM.* 2008, 8, 1429. CrossRef PubMed

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Revista Química Nova*, vol. 30, 2007.

CERQUEIRA, N. F., YOSHIDA, W. B. (2002) Óxido Nítrico. Revisão. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 17:417-423.

CHEAVIN, W.H.S., 1938. The crystals and cystoliths found in plant cells. Part 1: Crystals. *Microscope* 2, 155–158.

COLLI C. Nutracêutico é uma nova concepção de alimento. Notícias SBAN 1998;1:1-2.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. *Fundamentos de cromatografia*. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p.

COQUEIRO A. “Estudo Químico e Avaliação de Atividades Biológicas da Espécie Vegetal *Mabea Fistulifera Mart.* (Euphorbiaceae)”. Centro de Ciências Exatas Departamento de Química Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Estadual De Maringá - Dados Internacionais de Catalogação-Na-Publicação (Cip) 2006

CORRAL-AGUAYO, R. D.; YAHIA, E. M.; CARRILLO-LOPEZ, A.; GONZ_ALEZ-AGUILAR, G. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 10498–10504.

COSTA-NETO, E.; MORAES, V. The use of medicinal plants in the Country of Tanquinho, State of Bahia, Northeastern, Brazil. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.2, n.2, p.1-8, 2000.

COUTINHO, MARCELA A. S.; MUZITANO, MICHELE F.; COSTA, SÔNIA S. (2009). Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. Rev. Virtual Quim., 2009, 1 (3), 241-256. Data de publicação na Web: 26 de Junho de 2009.

DAVET, ALINE (2005), ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DO CACTO – *Cereus jamacaru* DE CANDOLLE, CACTACEAE – Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, 120 paginas.

DAVET, ALINE, SUZANE VIRTUOSO, JOSIANE F. G. DIAS, MARILIS D. MIGUEL, ANDRESSA B. OLIVEIRA, OBDÚLIO G. MIGUEL (2009), Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae, Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 19(2B): 561-564, Abr./Jun. 2009.

DESGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. Visão Acadêmica, vol. 05, 2004.

DI MATTEO, V., & ESPOSITO, E. (2003). Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. *Current Drug Targets—CNS and Neurological Disorder*, 2, 95–107.

DIPLOCK, A. T., AGGET, P. J., ASHWELL, M., BORNET, F., FERN, E. B., & ROBERFROID, M. B. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81, 1–27.

EHLENFELDT, M. K., & PRIOR, R. L. (2001). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2222–2227.

ELHADI M. YAHIA , CANDELARIO MONDRAGON-JACOBO (2011). Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Research International* 44 (2011) 2311–2318

ERENEL, G., ERBAS, D., ARICIOGLU, A. (1993) Free radicals and antioxidant systems. *Materia Medica Polona*. 85:37-43.

FABRI, R. L. (2008) Estudo fitoquímico de *Mitracarpus frigidus* (Willd. ex Reem Schult.) K. Schum. Biomonitorado pela atividade antimicrobiana e avaliação das atividades citotóxica, leishmanicida e antioxidante. Dissertação de Mestrado – Juiz de Fora – MG, Universidade Federal de Juiz de Fora, 148 páginas.

FANG, Y. N. ; LIU, G. T. (2002) Effect of isorhapontigenin on respiratory burst of rat neutrophils. *Phytomedicine*, 9: 734-738.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ J. A. & LUÍS ALMELA & JOSÉ M. OBÓN & ROSARIO CASTELLAR (2010). Determination of Antioxidant Constituents in Cactus Pear Fruits. *Plant Foods Hum Nutr* (2010) 65:253–259.

FRANCA TOMÈ, NUNZIATINA DE TOMMASI (2003). Antioxidant and free radical scavenging activity of flavonol glycosides from different *Aconitum* species. *Journal of Ethnopharmacology* 86 (2003) 63–67.

GALATI, E.M., TRIPODO, M.M., TROVATO, A., MICELI, N., MANFORTE, M.T., 2002. Biological effect of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 17–21.

GALLEGOS-OLEA, R.S.; BORGES, M.O.R.; BORGES, A.C.R.; FREIRE, S.M.F.; SILVEIRA, L.M.S.; VILEGAS, W.; RODRIGUES, C.M.; OLIVEIRA, A.V.1; COSTA, J.L. - Flavonóides de *Calotropis procera* R. Br. (Asclepiadaceae) - *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.10, n.1, p.29-33, 2008.

GARCIA, J. C.; VALDEZ, C. A. F. 2003. Nopalitos y tunas: producción, comercialización, poscosecha e industrialización. Chapingo. pp.225.

GARY S. BAÑUELOS, CECIL STUSHNOFF, SPENCER S. WALSE, TATIANA ZUBER, SOO IN YANG, INGRID J. PICKERING, JOHN L. FREEMAN. Biofortified, selenium enriched, fruit and cladode from three *Opuntia* Cactus pear cultivars grown on agricultural drainage sediment for use in nutraceutical foods. *Food Chemistry* 135 (2012) 9–16

GEBHARDT, S. E., LEMAR, L. E., HAYTOWITZ, D. B., PEHRSSON, P. R., NICKLE, M. S., SHOWELL, ET AL. (2008). USDA National Nutrient Database for Standard

Reference, Release 21. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Available from: <<http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>>.

GLASS, V. 2005. Figo-da-índia: sabor entre espinhos. São Paulo. Seção Reportagens. Disponível em: http://globo.rural.globo.com/edic/185/rep_figoa.htm >. Acesso em: 25 abril 2005. Guerra, N. B.; Alves, M. A.; Tavares, M. O.

GOLA, G. NEGRI, J; E CAPALLETTI, C. 1965. Tratado de Botânica. 2. ed. Barcelona: Labor. 160 p.

GOMES, P. 1973. Forragens fartas na seca. São Paulo: Nobel. 236p.

GROTEWOLD E. (2006) The Genetics and Biochemistry of Floral Pigments. The Annual Review of Plant Biology is online at plant.annualreviews.org doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105248

GUEVARA-FIGUEROA T, JIMENEZ-ISLAS H, REYES-ESCOGIDO M, MORTENSEN A, LAURSEN B, LIN L, DE LEON- RODRIGUEZ A, FOMSGAARD I, DE LA ROSA A (2010) Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*: 525-532

HANASAKI, Y., OGAWA, S., AND FNKUI, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.* 16, 845-850

HARBORNE, J. B. (1965). Plant polyphenols-XIV. Characterization of flavonoid glycosides by acidic and enzymic hydrolyses. *Phytochemistry*, 4(1), 107–120.

HARBORNE, J. B. (1994) Phenolics In: MANN, J., DAVIDSON, R. S., HOBBS, J. B., BANTHORPE, D. V. *Natural Products. Their chemistry and biological significance*. 1. ed. New York: Longman scientific & Technical, p. 361-388.

HARBORNE, J. B., WILLIAMS, C. A. (2000) Advances in favonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 55:481-504.

HASSANBAGLOU ., AZIZAH A. HAMID, A. M. R, NORIHAN M. S., AHMADSAHIB A., ALFI K. AND SABU M.C (2012). Antioxidant activity of different extracts from leaves of *Pereskia bleo* (Cactaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 6(15), pp. 2932-2937, 23 April, 2012

HAVSTEEN, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.* 96: 67-202.

HEIM, K. E., TAGLIAFERRO, A. R., & BOBILYA, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572–584.

HUANG, G. C., CHOW, J. M., SHEN, S. C., YANG, L. Y., LIN, C. W., CHEN, Y. C. (2007) Wogonin but not Nor-wogonin inhibits lipopolysaccharide and lipoteichoic acid-induced iNOS gene expression and NO production in macrophages. *International Immunopharmacology*. 7:1054–1063.

HUNGENHOLTZ, J.; SMID, E. J. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*. v. 13, p. 497-507, 2002.

HUTCHENSON D. Researcher lists characteristics of probiotics. *Feddstuffs* 1987;14:8-10.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION – IFIC. (2006) *Functional Foods*. <<http://www.ific.org/nutrition/functional>>. Acesso em: 15 de julho de 2008.

IRIS C. ZAMPINI, ROXANA ORDOÑEZ , NORBERTO P. GIANNINI, PEDRO G. BLENDINGER, MARÍA INÉS ISLA (2011). Nutraceutical properties and toxicity

studies of fruits from four Cactaceae species grown in Argentine Northwestern. *Food Research International* 44 (2011) 2345–2351

JAE HWAN KIM , HYUN-JUNG LEE, YOOHEON PARK , KYUNG SOO RA, KWANG-SOON SHIN, KWANG-WON YU, HYUNG JOO SUH.(2013) - Mucilage removal from cactus cladodes (*Opuntia humifusa* Raf.) by enzymatic treatment to improve extraction efficiency and radical scavenging activity - *Food Science and Technology* 51 (2013) 337e342

JOSÉ A. FERNÁNDEZ-LÓPEZ & LUÍS ALMELA & JOSÉ M. OBÓN & ROSARIO CASTELLAR(2010). Determination of Antioxidant Constituents in Cactus Pear Fruits. *Plant Foods Hum Nutr* (2010) 65:253–259

KINGHORN, A. D. *J. Pharm. Pharmacol.* 2001, 53, 135.

KINOSHITA K, KOYAMA K, TAKAHASHI K, KONDO N, YUASA H (2000) A new triterpenoid saponin from *Isolatocereus dumortieri*. *J Nat Prod* 63:701–703.

KOLEVA, L. I., VAN BEEK, T .A., LINSSEN, J. P. H., De GROOT, A., EVSTATIEVA, L. N. (2002) Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. 13: 8-17.

KRIS-ETHERTON, P. M., HECKER, K. D., BONANOME, A., COVAL, S.M., BINKOSKI, A. E., & HILPERT, K. F. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9B), 71–88.

KUSKOSKI, E. M., ASUERO, A. G., MORALES, M. T., FETT, R. (2006). Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, Santa Maria. 36(4): 1283-1287.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*. v. 12, p. 99-107, 2001a.

LACHMAN, J.; ORSAK, M.; HEJTMANKOVA, A.; KOVAROVA, E.; Food Sci. Technol. 2010. 43, 52.

LANGLEY-EVANS SC. Fetal programming of cardiovascular function through exposure to maternal undernutrition. Proc Nutr Soc. 2000;60:505-13.

LEE, J. C.; KIM, H. R.; KIM, J.; JANG, Y. S. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *Saboten*. J. Agric. Food Chem. 2011, 50, 6490–6496.

LEO DE M., M. BRUZUAL DE ABREU, A.M. PAWLOWSKA, P.L. CIONI, A. BRACA (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA–ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochemistry Letters* 3 (2010) 48–52

LEUENBERGER, B. Interpretation and tipification of cactus ficus---indica L. and *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller (Cactaceae). *Taxon.*, 1991.

LIGIA M.M. VALENTE, DJAVAN DA PAIXÃO, ADRIANA C. DO NASCIMENTO, PRISCILA F.P. DOS SANTOS, LEIA A. SCHEINVAR, MIRIAN R.L. MOURA, LUZINEIDE W. TINOCO, LUIZ NELSON F. GOMES, JOAQUIM F.M. DA SILVA. (2010), Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chemistry* 123 (2010) 1127–1131

LILIANA SANTOS-ZEA, JANET A. GUTI_ERREZ-URIBE, AND SERGIO O. SERNASALDIVAR (2011). Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 7054–7061

LUNA, J. S. (2006) Estudo de Plantas Bioativas. Tese de Doutorado – Recife – PE, Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, 254 páginas.

MABRY, T. J., MARKHAM, K. R., THOMAS. M. B. (1970) The systematic identification of flavonoids. Nova York: Springer-Verlag.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. (2002). Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, 25 (3): p. 429-438.

MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉSY C, JIMÉNEZ L. POLYPHENOLS: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr. 2004 May;79(5):727-47.

MANICA,I. Frutas nativas, silvestres e exóticas: tecnicas de produção e mercado: feijoa, figo da india, fruta pão, jaca, líchia, mangaba. Porto Alegre: cinco continentes. 2002. 541p.

MARIOD, B. A., IBRAHIM, R. M., ISMAIL, M., ISMAIL, N. (2009) Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. Food Chemistry 118:120–127.

MCCORD, J. M. Free radicals and pro-oxidants in health and nutrition. Food. Technol. v. 48, n. 3, p. 106-110, 1994.

MEDINA-TORRES LUIS, E JAIME VERNON-CARTER, J ALBERTO GALLEGOS-INFANTE, NURIA E ROCHA-GUZMAN, E E HERRERA-VALENCIA, FAUSTO CALDERAS AND RUB´EN JIM´ENEZ-ALVARADO (2011). Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. Published online in Wiley Online Library: 2 February 2011

MEOTTI, F. C.; LUIZ, A. P.; PIZZOLATTI, M. G.; KASSUYA, C. A. L.; CALIXTO, J. B. SANTOS, A. R. S. 2006. Analysis of the Antinociceptive Effect of the Flavonoid Myricitrin: Evidence for a Role of the L-Arginine-Nitric Oxide and Protein Kinase C Pathways. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 316:789-796.

MITTERMEIER, R. A.; MYERS, N.; GIL, P. R. & MITTERMEIER, C.G. 2000. Hotspots: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. CEMEX/Conservation International, Mexico City, 430 p.

MONJE, P.; BARAN, E. First evidence of the bioaccumulation of α -quartz in Cactaceae. *Journal of Plant Physiology*, v. 157, p. 457-460. 2000.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P., ARAUJO, E. L., AMORIM, E. L. C. (2005) Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*. 28:892-896.

MORAES F. P. & LUCIANE M. COLLA (2006). ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS: DEFINIÇÕES, LEGISLAÇÃO E BENEFÍCIOS À SAÚDE. *Revista Eletrônica de Farmácia Vol 3 (2)*, 99-112, 2006

MOREIRA, D. L. (2000) Métodos de análise e dosagem de taninos condensados, taninos gálicos e fenóis totais. Apostila NPPN-UFRJ.

MOTA, C.N. *Jurema's Children in the forest of spirits: healing and ritual among two Brazilian indigenous groups*. London: Intermediate Technology Publications, 1997. 133p.

MOUSSA-AYOUB T. E., SALAH K. EL-SAMAHY , LOTHAR W. KROH , SASCHA ROHN (2011). Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulase preparation. *Food Chemistry* 124 (2011) 1177–1184

MUHAMMAD SALEEM, HYOUNG JA KIM, CHANG KYUN HAN, CHANGBAE JIN, YONG SUP LEE - Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* - *Phytochemistry* 67 (2006) 1390–1394

MUZITANO, M. F., CRUZ, E. A., ALMEIDA, A. P., SILVA, S. A. G., KAISER, C. R., GUETTE, C., ROSSI-BERGMANN, B., COSTA, S. S. (2006) Quercetrin: an antileishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. *Planta medica*. 72:81-83.

NECCHI R. M. M., Izabel A. ALVE, Sydney H. ALVES, Melânia P. MANFRON (2012). In vitro antimicrobial activity, total polyphenols and flavonoids contents of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). *Research in Pharmacy* 2(3) : 01-07, 2012

NEGESSE T., H.P.S. MAKKAR, K. BECKER(2009). Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *Animal Feed Science and Technology* 154 (2009) 204–217

NINA URALA & LIISA LAHTEENMAKI ATTITUDES (2004) . *Food Quality and Preference* 15 (2004) 793–803. *Food Quality and Preference* , Sciencedirect
NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J.A. P.V.; BURITY, H. A.; SILVA JUNIOR, J. F. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. (2002). *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 37, n. 4, p. 463-470

NORTHWESTERN, ScienceDirect, *Food Research International* 44 (2011) 2345–2351.

OBED OSORIO-ESQUIVEL , ALICIA-ORTIZ-MORENO, VALENTE B. ÁLVAREZ , LIDIA DORANTES-ÁLVAREZ , M. MÓNICA GIUSTI (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International* 44 (2011) 2160–2168

OLIVEIRA E. A., S. F. JUNQUEIRA E R. J. MASCARENHAS(2011). Caracterização Físico---Química e Nutricional do Fruto da Palma (*Opuntia Ficus Indica* L. Mill) Cultivada no Sertão do Sub---Médio São Francisco. *Holos*, Ano 27, Vol 3

OLIVEIRA, D. B.; PESSANHA, N. N. C.; BERNARDES, N. R.; SILVA, W. D.; MUZITANO, M. F.; OLIVEIRA, D. R. (2009) Extrato dos frutos de *Cereus Fernambucensis*: Atividade Antioxidante e Inibição da Produção de Óxido Nítrico (NO) por Macrófagos. *Interscienceplace*, ano 2 , n. 07, Maio/Junho. Fluminense Darcy Ribeiro – UENF Campos dos Goytacazes, 108 páginas 2010.

OLIVEIRA, F. M. N.; ALEXANDRE, H. V.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.; OLIVEIRA, A. R. Características físicoquímicas da polpa e casca do fruto do mandacaru. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19. 2004, Recife. Anais... Recife: Centro de Convenções de Pernambuco, 2004.

PAIVA, S. R.; HERINGER, A. P.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. (2002). Taninos condensados de espécies de Plumbaginaceae. 9(1):153 – 157.

PARK, E; CHUN, M. Wound healing activity of *Opuntia ficus-indica*. *Fitoterapia*, v. 72,p. 165-167. 2007.

PEREIRA, S. R. et al. Avaliação da atividade ansiolítica do extrato hidoralcoólico da *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). reunião anual da federação de sociedades de biologia experimental, 20., 2005, Águas de Lindóia (SP). Resumos... Águas de Lindóia: FESBE, 2005. p. 44.202.

PETERSON, J & DWYER J. (1998) Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12):1995- 2018.

PHILLIPSON, J. D.; ANDERSON, L. A.; *Ethnopharmacology and western medicine*. (1989). *Journal of Ethnopharmacology*, 25 (1), p. 61-72.

PIMIENTA, B. E. *El nopal tunero*. Univ. de Guadalajara, México., 1990

POZZI, A. C. S. (2007) Desenvolvimento de métodos de análise Espectrofotométrica de flavonóides do “maracujá”. Tese de Mestrado – São Paulo – SP, Universidade de São Paulo, 86 páginas.

POZZI, A. C. S. (2007) Desenvolvimento de métodos de análise Espectrofotométrica de flavonóides do “maracujá”. Dissertação de Mestrado – São Paulo – SP, Universidade de São Paulo, 86 páginas.

QUEIROZ G. S. (2012) Flavonóides de Bunchosia Armeniaca e Derivados de 2-Arilideno-1-A-Tetralona: Obtenção e Atividades Biológicas. Tese de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Programa de Pós-Graduação em Química Departamento de Química

REIS, C. N.; FREITAS, W. R.; VENTURA, T. L. B.; KANASHIRO, M. M.; MUZITANO, M. F.; OLIVEIRA, D. B. (2011). Inibição da Produção de Óxido Nítrico e Efeito Citotóxico de Extrato Aquoso de *Annona muricata* L. *Perspectivas Online – Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 1, n.2, p. 1- 8.

REIS, C.N. (2011) *Annona muricata* L. : análise química e biológica dos frutos de gravioleira. Dissertação de Mestrado – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 149 páginas.

REYNERTSON, K. A.; WALLACE, A. M.; ADACHI, S.; GIL, R. R.; YANG, H.; BASILE, M. J.; D'ARMIENTO, J.; WEINSTEIN, I. B.; KENNELLY, E. J.; *J. Nat. Prod.* 2008, 69, 1228.

RIBANI, R. H. (2006) Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. Tese de Doutorado – Campinas – SP, Universidade Estadual de Campinas, 158 páginas.

ROCHA, E. A E AGRA, M. F. 2002. Flora do pico do jabre, Brasil: Cacteeceae juss. *Acta Botânica Brasilica*. 16:15-21.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUZA, C. A. S.; PASTORE, G. M.; *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. I. 2007, 27, 53.

ROSS, J. A., KASUM, C. M. (2002) Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*. 22:19–34.

ROSS, J. A., KASUM, C. M. (2002) Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*. 22:19–34.

SABUDAK, T.; DOKMECH, D.; OZYGIT, F.; ISIK, E.; AYDOGDU, N. (2005) Antiinflammatory and Antioxidant Activities of *Trifolium resupinatum* var. *microcephalum* Extracts. *Asian Journal of Chemistry*, 20: 1491-1496.

SALEEM, M., KIM, H. J., HAN, C. K., JIN, C., & LEE, Y. S. (2006). Secondary metabolites from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Phytochemistry*, 67, 1390–1394.

SALVADOR H. GUZMÁN-MALDONADO (2011). Effects of maturity stage and storage on cactus berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 129 (2011) 1744–1750

SAWAYA, W. N., J. K. KHALIL e M.M. AL-HAMMAD. Nutritive value of prickly pear seeds, *Opuntia ficus-indica*, 1983.

SCHEINVAR, L. *Cactáceas. Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí. 1985.

SCHIFFMAN, L. G.; KANUK, L. L. (2000) *Comportamento do Consumidor*. 6.ed. Rio de Janeiro. LTC

SCHNEIDER, C. D., OLIVEIRA, A. R. (2004) Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 10:308-313.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, A.N.; PELL, A.N. (2001) Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 92:21-40.

SEPÚLVEDA, E.; SÁENZ, C. Características químicas y físicas de pulpa de tuna (*Opuntia ficus-indica* L.). *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos Valência*, v. 30, n. 4, p. 551---555, 1990.

SEYOUM, A., ASRES, K., & EL-FIKY, F. K. (2006). Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058–2070.

SHAHIDI, F. (2004). Functional foods: Their role in health promotion and disease prevention. *Journal of Food Science*, 69, 146–149.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SILVA, L.R.; ALVES, R.E.; Caracterização físico-química de frutos de mandacaru. In: *Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba*, v.7, n.2, p.199-205, abr./jun. 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; *Farmacognosia - da Planta ao Medicamento*, 5ª ed., Editora da UFSC: Santa Catarina, 2004.

SIMONIAN NA, COYLE JT (1996) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, p. 36, 83.

SINGH, R. B., DUBNOV, G., NIAZ, M. A., GHOSH, S., SINGH, R., RASTOGI, S. S., MANOR, O., PELLA, D., BERRY, E.M. (2003) Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomized single-blind trial. *Lancet*. 360:455-1461.

SKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., RI, M., HRAZ, A. R., SIMONIC, M., KNEZA, M. (2005) Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89:191–198.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. (2002) *Princípios da Análise Instrumental*. 5 edição, Porto Alegre: Bookman.

SOARES, S. E. (2002) Phenolic acids as antioxidants. *Revista de Nutrição*. 15:71-81.

SOARES, S. E. (2002) Phenolic acids as antioxidants. *Revista de Nutrição*. 15:71-81.

SOUZA, A. C. M. DE. 2005. Características físicas, físico-químicas, químicas e nutricionais do quipá (*Tacinga inamoena*). 47f. Dissertação (Ciências dos Alimentos) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

STAHL, H., W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

STINTZING, F. C., & CARLE, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutritional Food Research*, 49, 175–194.

STINTZING, F.C. & CARLE, R. (2004). Cactus fruits – more than colour. *Fruit Processing*, 16, 166–171.

STRACK, D., ENGEL, U. & WRAY, V. (1989). Neobetanin: a new natural plant constituent. *Phytochemistry*, 26: 2399–2400.

SWAIN, T., HILLIS, W.E. (1959) The phenolics constituents of *Prunus domestica*: the quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal Sci Food Agric*, 10: 63-8.

TAMER E. MOUSSA-AYOUB , SALAH K. EL-SAMAHY, SASCHA ROHN, LOTHAR W. KROH - Flavonols, betacyanins content and antioxidant activity of cactus *Opuntia macrorhiza* fruits *Food Research International* 44 (2011) 2169–2174

TAN, M. L. et al. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. *J. Ethnopharm.* v. 96, n. 1, p. 287-294, 2005.

TAYLOR, N. P. & ZAPPI, D. C. 1997. Cactaceae Consensus Initiatives 3: 8. _____. 2004. Cacti of Eastern Brazil. Richmond, Surrey, UK. The Royal - Botanic Gardens, Kew, 499 p.

VALENTE LIGIA M.M., DJAVAN DA PAIXÃO, ADRIANA C. DO NASCIMENTO, PRISCILA F.P. DOS SANTOS, LEIA A. SCHEINVAR, MIRIAN R.L. MOURA, LUZINEIDE W. TINOCO, LUIZ NELSON F. GOMES, JOAQUIM F.M. DA SILVA (2010). Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (Cactaceae). *Food Chemistry* 123 (2010) 1127–1131

VALENTE, L.; SILVA, G.; ANTUNES, A. P.; SANTOS, F. A. L.; SIANI, A. C.; TAPPIN, M. R. R.; SANTOS, R.; SOARES, R. O. A.; FERREIRA, E.; GIBALDI, D.; MAZZEI, J. L.; SHEINVAR, L. A. Evidência de alcalóides feniletilamínicos e bioatividade de três espécies de Cactáceas brasileiras. *Anais do XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Águas de Lindóia – SP*, p. 122, 1998.

VEITCH, N. C.; GRAYER, R. E. *J. NAT. PROD. REP.* 2008, 25, 555. CrossRef PubMed Veitch, N. C.; Grayer, R. E. *J. Nat. Prod. Rep.* 2008, 25.

VIEGAS-JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. (2006). Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, 29 (2): p. 326-337.

VOLP A. C. P., RENHE, I. R. T., STRINGUETA, P. C., PIGMENTOS NATURAIS BIOATIVOS v.20, n.1, p. 157-166, jan./mar. 2009, *Alim. Nutr.*, Araraquara

WANASUNDARA UN, SHAHIDI F (1998). Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extract in marine oils. *Food Chem.*, 63: 335-342.

WÓJCIK OP, KOENIG KL, ZELENIUCH-JACQUOTE A, COSTA M, CHEN Y (2010) The potential protective effects of taurine on coronary heart disease. *Atherosclerosis* 208:19–25

WOJDYO, A., OSZMIAN, J., CZEMERYYS, R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105:940–949.

WYBRANIEC S.A., ITZHAK PLATZNER, SHIMONA GERESH, HUGO E.GOTTLIEB, MARCELA HAIMBERG, MICHAEL MOGILNITZKI, YOSEF MIZRAH (2001). Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. *Phytochemistry* 58 (2001) 1209–1212

WYBRANIEC S.BARBARA NOWAK-WYDRA, KATARZYNA MITKA, PIOTR KOWALSKI, YOSEF MIZRAHI (2007). Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. *Phytochemistry* 68 (2007) 251–259

YAHIA E. M., MONDRAGON-JACOBO C. (2011). Nutritional components and antioxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Research International* 44 (2011) 2311–2318

YAHIA, E. M. (2010). The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. *Phytochemicals: Chemistry, nutritional and stability* (pp. 3–51). Wiley-Blackwell Chapter 1.

YAHIA, E. M., & ORNELAS-PAZ, J. (2010). Chemistry, stability and biological actions of carotenoids. In L. A. De la Rosa, E. Alvarez-Parrilla, & G. A. Gonzalez-Aguilar (Eds.), *Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability*. USA: Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc., Publication.

YEN, G. C.; DUH, P. D. (1994) Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *J. Agric. Food Chem.*, 42 (3): 629-632.

ZHANG, Z.; ZHANG, Q.; WANG, J.; SONG, H.; ZHANG, H.; Niu, X.; *Carbohydr. Polym.* 2010, 79, 290.