

## **Extração das proteínas de sementes e polpa de *Cucurbita maxima*: uma análise experimental**

### **Extraction of proteins from *Cucurbita maxima* seeds and pulp: an experimental analysis**

DOI:10.34117/bjdv7n6-618

Recebimento dos originais: 07/05/2021

Aceitação para publicação: 25/06/2021

#### **Thaís de Oliveira Anastácio**

Biomédica. Mestranda em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul–UFMS  
Av. Senador Filinto Muller, S / N, Cidade Universitária, Campo Grande-MS.  
E-mail: thaisanastacio@hotmail.com

#### **Bruna Sanae Moroto**

Bióloga. Mestranda em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul–UFMS  
Av. Senador Filinto Muller, S / N, Cidade Universitária, Campo Grande-MS.  
E-mail: bruna22sanae@gmail.com

#### **Janaína de Cássia Orlandi Sardi**

Pós- Doutorado pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, FOP-UNICAMP  
Professora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul–UFMS. Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição- FAFAN, Caixa Postal 549, Brasil.  
E-mail: janaina.sardi@ufms.br

#### **Caio Fernando Ramalho de Oliveira**

Pós-Doutorado pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS. Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição- FAFAN, Caixa Postal 549, Brasil  
E-mail: oliveiracfr@gmail.com

#### **Maria Lígia Rodrigues Macedo**

Pós-Doutorado pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, ESALQ/USP. Professora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul –UFMS Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição -FAFAN, Caixa Postal 549, Brasil.  
E-mail: bioplant@terra.com.br

## **RESUMO**

As abóboras (Cucurbitaceae) estão distribuídas em mais de 120 gêneros e 800 espécies. Acredita-se que as abóboras foram cultivadas pela primeira vez no México, em 5.550 a.C. Devido ao melhoramento genético, hoje, as abóboras são cultivadas nas mais variadas condições climáticas em todo o mundo. Por este motivo, estudos acerca do potencial anti-

helmíntico, anti-hipertensivo, hipoglicêmico, antimicrobiano e antioxidante de diversas espécies de abóboras são crescentes. Do ponto de vista nutricional, as Cucurbitáceas são fontes de vitaminas A, B, cálcio, ferro, silício e magnésio. Neste estudo descrevemos o processo de extração das proteínas presentes no endosperma das sementes e na polpa de *Cucurbita maxima*, variedade Duchesne (moranga). A farinha do endosperma das sementes foi utilizada para a extração de proteínas, utilizando tampão fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,1 M contendo 0,3 M de NaCl, pH7,6. Uma segunda metodologia de extração foi realizada utilizando água destilada. A extração em tampão fosfato apresentou um rendimento de 10,5%, enquanto a extração aquosa apresentou rendimento próximo de 0,6%. A partir da polpa, a recuperação de proteínas foi inversa: 0,2% para o extrato salino e 1,7% para o extrato aquoso. Dado o elevado teor de proteínas presente nas sementes, propomos seu uso como forma de suplementação nutricional e/ou probiótica, sendo necessárias análises complementares para investigar seu valor biológico, bem como as propriedades antimicrobianas e antifúngicas.

**Palavras-chave:** Eletroforese, Extração de proteínas, Fitoquímico.

### ABSTRACT

Pumpkins (Cucurbitaceae) are distributed in more than 120 genera and 800 species. Pumpkins are believed to have been grown for the first time in Mexico, in 5,550 BCE. Due to genetic improvement, nowadays, pumpkins are grown in the most varied climatic conditions worldwide. For this reason, studies on the anthelmintic, antihypertensive, hypoglycemic, antimicrobial and antioxidant potential of several species of pumpkins are growing. From a nutritional point of view, Cucurbits are sources of vitamins A, B, calcium, iron, silicon, and magnesium. In this study we describe the process of extracting proteins present in the endosperm of the seeds and in the pulp of *Cucurbita maxima*, variety Duchesne (moranga). The flour from the seed endosperm was used for protein extraction, using 0.1 M potassium phosphate buffer ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) containing 0.3 M NaCl, pH7.6. A second methodology was performed using distilled water. The extraction in phosphate buffer showed a yield of 10.5%, while the aqueous extraction showed a yield close to 0.6%. From the pulp, the recovery of proteins was reversed: 0.2% for the salt extract and 1.7% for the aqueous extract. Given the high protein content present in the seeds, we propose its use as a form of nutritional and / or probiotic supplementation, requiring further analysis to investigate its biological value, as well as the antimicrobial and antifungal properties.

**Keywords:** Electrophoresis, Protein extraction, Phytochemical.

## 1 INTRODUÇÃO

As abóboras pertencem à família Cucurbitaceae, que possui uma grande diversidade de gêneros e espécies. Apesar de ser cultivada em todo o mundo, pressupõe-se que elas tenham sido cultivadas inicialmente no México, em 5.500 a.C. As diferentes variedades de abóboras florescerem de julho a setembro, sendo seus frutos obtidos entre os meses de agosto a outubro [1]. *Cucurbita máxima*, variedade Duchesne, popularmente conhecida por abóbora moranga, foi escolhida para este estudo por apresentar elevado valor nutricional e consumo entre os brasileiros. Estas propriedades têm chamado a

atenção de profissionais, como nutricionistas, por seu elevado teor de proteínas (30-51%), ácidos graxos (até 40%), além do elevado teor de carboidratos, macro e microelementos [2]. A espécie é rica em ácidos graxos insaturados (65-79 %), com predominância dos ácidos linoleico e oleico [3].

Recentemente, a composição fitoquímica de três espécies do gênero *Cucurbita* foi investigada: *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, e *C. maxima* [4]. Além disso, as três espécies apresentaram elevado teor de potássio, fósforo, cálcio, magnésio, sódio, ferro e zinco. Análises de amostras das sementes, polpa e casca de *C. maxima* revelaram elevado teor proteínas e ácidos graxos. As sementes se destacaram pelo maior conteúdo proteico (27,5 %), apresentando ainda o maior teor de carboidratos (24,5 %), lipídios (52,4 %) e fibras (16,2 %).

As sementes de diferentes espécies de abóboras vêm sendo investigadas acerca de seus constituintes químicos e suas propriedades biológicas. As proteínas, óleos, compostos antioxidantes e elementos presentes nas sementes vêm sendo descritas como benéficas a saúde. O extrato proteico de sementes de *C. moschata* apresentou atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias [5]. Através de ensaios de atividade antimicrobiana utilizando discos de difusão, os efeitos bactericidas sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus flavus* e *Penicillium chrysogenum* foram demonstrados. As propriedades fungicidas foram comprovadas contra *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus*. O extrato proteico da polpa da mesma espécie apresentou atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *B. subtilis*.

As sementes ganham destaque em diversos estudos por apresentarem compostos com propriedades hipoglicemiantes, anti-inflamatória, capazes de reduzir os níveis de colesterol sérico e normalizarem a pressão arterial [2]. As sementes são fontes de vitaminas do complexo B, vitamina A, além de possuírem carotenoides em sua composição, moléculas com propriedades antioxidantes. Os antioxidantes são componentes indispensáveis para a manutenção, crescimento e desenvolvimento do tecido epitelial, além de contribuírem para a atividade do sistema imunológico e da visão noturna [6]. O extrato etanólico de sementes de *C. maxima* apresentou atividade anti-helmíntica, *in vitro*, contra *Entamoeba histolytica*, efeitos comparáveis ao do metronidazol, medicamento comercial [7].

O aminograma realizado com a farinha de sementes de *C. maxima* [8] revelou a presença de aminoácidos essenciais (leucina, isoleucina, histidina, treonina, valina e triptofano) e não essenciais, como ácido glutâmico (5,63 g/100 g), arginina (4,91 g/100

g) e ácido aspártico (2,94 g/100 g). Por este motivo, dada a presença de uma grande quantidade de aminoácidos essenciais, as sementes de *C. maxima* se mostram como uma importante fonte deste grupo de substâncias. Contudo, a maior parte da população brasileira não possui o hábito de consumir as sementes de abóboras, descartando uma parte do fruto muito rica em macromoléculas. O processamento das sementes de abóboras, portanto, poderia ser empregado para a obtenção de proteínas de elevado valor nutricional.

Na indústria, as sementes das abóboras também são, na maioria das vezes, descartadas durante o processo de beneficiamento da polpa, que possui elevado valor agregado. Assim, propomos investigar o teor de proteínas nas sementes e polpa da abóbora *C. maxima* (Duchesne), a fim de estabelecermos um processo de extração de proteínas que poderiam ser utilizadas como um suplemento alimentar alternativo as proteínas de origem animal, como as proteínas isoladas no soro do leite. Com o propósito de aumentar a concentração e a meia-vida dos extratos proteicos de *C. maxima*, investigamos a aplicação do processo de liofilização. Em paralelo, realizamos a extração das proteínas da polpa de *C. maxima*, a fim de demonstrar o elevado rendimento das sementes, sugerindo seu potencial aplicação como suplemento alimentar.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DA FARINHA DE SEMENTES DE *CUCURBITA MAXIMA*

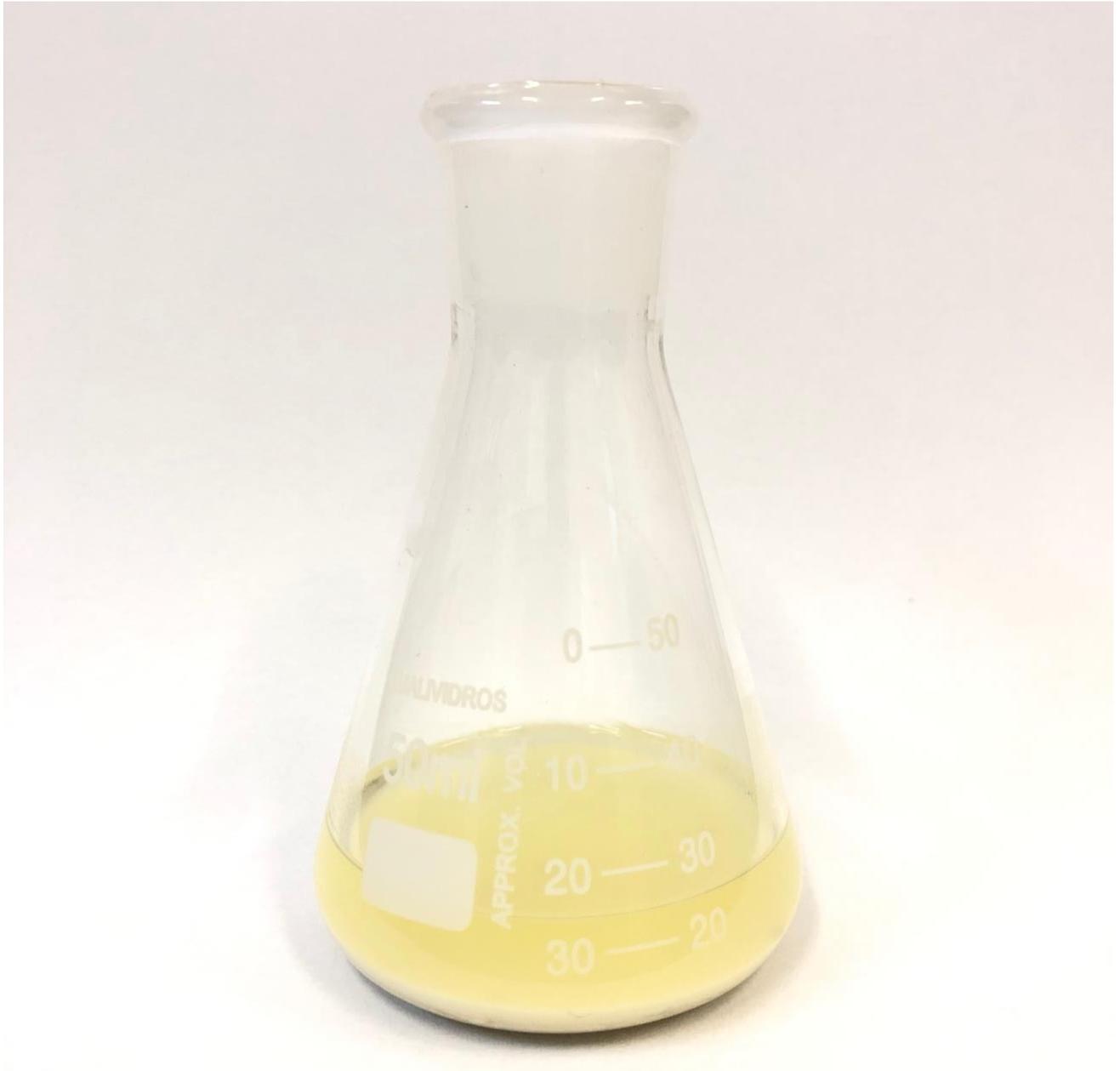
As sementes de *C. maxima* tiveram o tegumento removido manualmente para a obtenção do endosperma. O endosperma foi submetido à secagem 40 °C por 18 h, conforme metodologia proposta por Pumar [9] e Cerqueira [10]. Inicialmente, 820 g de sementes *in natura* foram utilizadas. Para a extração proteica, o endosperma seco foi pulverizado em moinho analítico (IKA A11).

### 2.2 DELIPIDAÇÃO DA FARINHA DAS SEMENTES

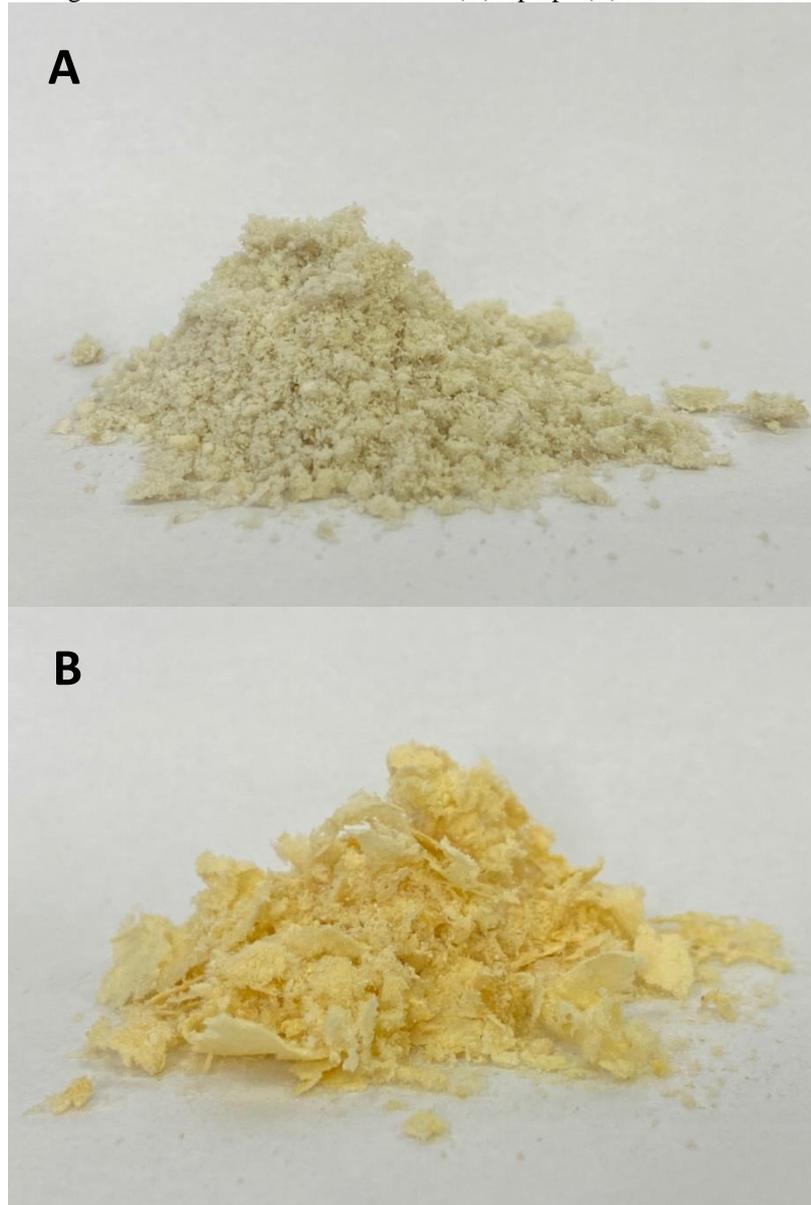
A farinha foi submetida ao processo de delipidação com hexano PA, a fim de evitar que a presença de lipídios interferisse na extração proteica. Dentro de uma capela de fluxo, a farinha foi acondicionada em Erlenmeyer, onde foi adicionado o solvente orgânico hexano. A mistura foi homogeneizada a cada 30 min e a troca do hexano realizada a cada 3 h. Ao todo, 3 trocas de hexano foram realizadas para a remoção completa de lipídios, conforme a Figura 1.

Ao final da delipidação, a farinha foi depositada em uma bandeja contendo papel filtro. A secagem do material ocorreu em capela durante 24 h. A farinha delipidada foi utilizada para a extração proteica (Figura 2). Parte da farinha que não foi utilizada foi armazenada a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Figura 1 - A farinha do endosperma de sementes passando pelo processo de delipidação com o reagente hexano.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 2- Extratos salinos de semente (A) e polpa (B) de *C. maxima*.

Fonte: Elaborado pelos autores.

### 2.3 EXTRAÇÃO PROTEICA DA FARINHA DAS SEMENTES

Para a extração proteica, a farinha delipidada foi misturada com tampão fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,1 M contendo cloreto de sódio 0,3M, pH 7,6, proporção 1:10 (p:v), sob agitação constante por 2 h, a 8 °C. Após o intervalo de extração, a amostra foi submetida à centrifugação por 30 min a 10.000 rpm, a temperatura ambiente, em centrífuga HITACHI – CR 22GIII. A fração sobrenadante foi dialisada contra água destilada em membrana de diálise constituída de celulose (43 mm x 27 mm, corte de 14 kDa, Sigma-Aldrich) durante 72 h. Em seguida, a amostra dialisada foi liofilizada em Liofilizador - Heto FD 1.0, sendo denominada extrato bruto salino (EBSS). Uma alíquota da farinha delipidada foi submetida ao processo similar de extração proteica utilizando

água destilada. Ao final do processo, essa amostra foi denominada extrato bruto aquoso (EBAS).

#### 2.4 EXTRAÇÃO PROTEICA DA POLPA

A polpa fresca foi processada em liquidificador durante 10 min com tampão fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,1 M contendo cloreto de sódio 0,3M, pH 7,6, proporção 1:10 (p:v). A amostra foi submetida à centrifugação por 30 min a 10.000 rpm a 20 °C. A fração sobrenadante foi dialisada contra água destilada em membrana de diálise constituída de celulose (43mm x 27mm, corte de 14 kDa, Sigma-Aldrich) por 72 h, sendo liofilizada e denominada extrato bruto salino da polpa (EBSP). De maneira similar, o extrato bruto aquoso da polpa (EBAP) foi obtido, utilizando como extrator água destilada.

#### 2.5 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS

Após a liofilização, os extratos foram submetidos à quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976), utilizando uma curva de calibração feita com albumina do soro bovino (BSA, 0,5-0,03 mg/mL). O resultado foi representado em mg/mL.

#### 2.6 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

A análise da composição proteica dos extratos foi analisada através da metodologia de eletroforese de proteínas descrita por Laemmli [11], utilizando gel de eletroforese de poliacrilamida contendo SDS (SDS-PAGE). Um sistema descontínuo foi montado com um gel de separação com a concentração de acrilamida/bis-acrilamida a 12% (1,5mm), sendo as amostras aplicadas em um gel de concentração (5 %). Amostras e o marcador de peso molecular (Cytiva) foram incubados com tampão de amostra durante 5 min a 95 °C, aplicados no gel e separados a 200 V durante 55 min. Em seguida, o gel foi corado com solução Comassie Blue R-260 0,05%, overnight. O excesso de corante foi removido com solução descorante (metanol: ácido acético glacial: água, 3:1:6, v:v:v) até o aparecimento de bandas azuis contra o fundo transparente do gel. Em seguida, o gel foi digitalizado.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do beneficiamento das 1.000 g de sementes *in natura*, obtivemos 439 g de endosperma de sementes. As 360 g de farinha foram submetidas ao processo de delipidação. A delipidação é uma etapa importante, uma vez que os lipídeos presentes na

farinha interferem no processo de extração proteica, reduzindo a eficiência do processo de extração proteica. Dado o elevado teor de lipídios nas sementes de *C. maxima*, ao final do processo de delipidação, um total de 312 g de farinha delipidada foram obtidas, um rendimento médio de 31,3%. Esta farinha foi então utilizada no processo de extração proteica.

Ao final do processo de extração e diálise, a amostra obtida foi submetida ao processo de liofilização. A liofilização é uma técnica que permite armazenar o extrato proteico em uma forma altamente desidratada. Assim, o tempo de armazenamento das proteínas extraídas aumenta sensivelmente. Ao todo, 10,6 g de proteínas foram obtidas no processo de extração com tampão fosfato, contra 0,64 g de de proteínas totais isoladas a partir do extrato feito com água destilada. No que tange o processo de extração proteica da polpa, um total de 0,2 g de proteínas foram isoladas a partir da extração com tampão fosfato, enquanto 1,7 g de proteínas foram obtidas a partir da extração água destilada. Os resultados são observados na Tabela 4.

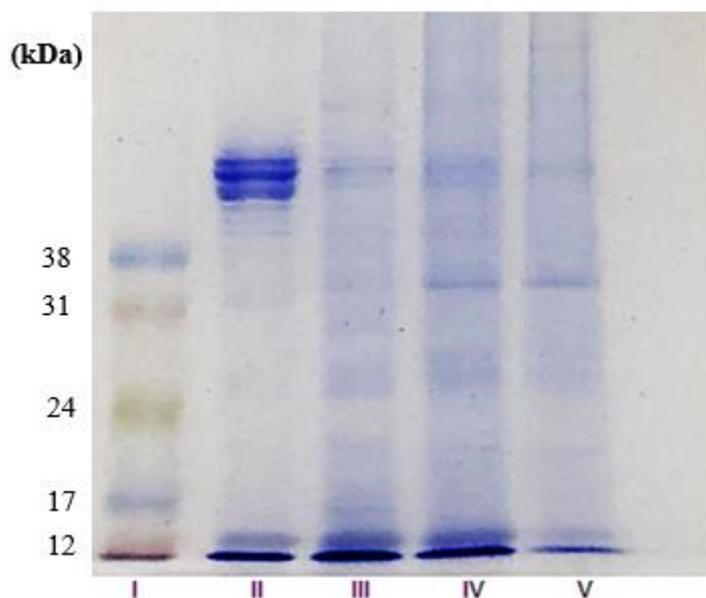
O melhor rendimento na extração com tampão fosfato pode ser justificado pelo maior grau de ionização obtido em pH próximo ao fisiológico, facilitando a dissolução das proteínas presentes nas amostras. Portanto, o aumento da força iônica do meio consequentemente ocasionou o aumento da solubilização das proteínas [12].

A fim de quantificar o teor de proteínas solúveis nos extratos obtidos de semente e polpa, o método de quantificação de proteínas por Bradford foi utilizado, uma metodologia rápida, sensível e precisa. O reagente de Bradford é preparado com o corante *Coomassie Brilliant Blue*, capaz de interagir com as cadeias laterais de resíduos de aminoácidos contendo anéis aromáticos, como tirosina e triptofano [13]. A partir do preparo dos extratos (salino e aquoso), na concentração de 5 mg/mL, determinamos que o extrato bruto salino da semente (EBSS) apresentou 4,64 mg/mL de proteínas, contra 2,31 mg/mL do extrato bruto aquoso da semente (EBAS). Amostras provenientes da polpa foram preparadas na concentração de 20 mg/mL. O extrato bruto salino da polpa (EBSP) apresentou 2,88 mg/mL de proteínas, enquanto o extrato bruto aquoso da polpa (EBAP) apresentou 0,86 mg/mL de proteínas.

A eletroforese de proteínas em condições desnaturantes (SDS-PAGE) utiliza o detergente aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS). A eletroforese é comumente empregada para separar misturas complexas de proteínas, e permite distinguir o número de proteínas presentes em uma amostra e avaliar a homogeneidade das amostras através da determinação de suas massas moleculares aproximadas. Por isso, a SDS-PAGE

também é utilizada para acompanhar processos de purificação de proteínas de interesse. Sob aplicação de um potencial elétrico, as proteínas, carregadas negativamente, migram através dos poros do gel de poliacrilamida. O tamanho dos poros é inversamente proporcional a concentração da acrilamida. Assim, a taxa de migração das proteínas dependerá apenas do tamanho das proteínas, uma vez que as cargas elétricas de seus aminoácidos foram mascaradas pelo excesso de SDS [11]. O resultado da SDS-PAGE dos extratos de *C. maxima* pode ser analisado na Figura 3. No gel verificamos que as extrações salina e aquosa de sementes (II e III) apresentaram uma diferença visível na composição de proteínas, principalmente em proteínas de massa molecular superior a 39 kDa. Essa diferença foi menor nas extrações de proteínas da polpa.

Figura 3 - Eletroforese SDS-PAGE. (I) Marcador de peso molecular (em kDa); (II) Extrato bruto salino da semente; (III) Extrato bruto aquoso da semente; (IV) Extrato bruto salino da polpa e (V) Extrato bruto aquoso da polpa.



Fonte: Elaborado pelos autores.

A elaboração de produtos originados a partir da utilização de resíduos agroindustriais baixo valor agregado - que apresentam propriedades nutricionais, antioxidantes e até antimicrobianas - possui um forte apelo econômico e social. Uma vez demonstradas as propriedades biológicas das proteínas presentes nas sementes de *C. maxima*, este produto, atualmente considerado um subproduto, pode ser explorado em benefício da agricultura familiar, por exemplo. Isso decorre da verificação que as sementes de abóbora, até então consideradas em simples agroindustrial, poderia se tornar

uma importante fonte de renda para as famílias que cultivam e comercializam a polpa destes produtos [8].

A farinha de sementes de abóbora pode ser utilizada com o propósito alimentar, conforme demonstrado no estudo de Bitencourt [14], que desenvolveu receitas de bolos enriquecidos com a farinha da semente de abóbora, substituindo parcialmente o conteúdo de farinha de trigo. Como resultado, os autores obtiveram alimentos com maior teor de fibras, proteínas, lipídeos e tocoferóis, apresentando diversos benefícios nutricionais. A produção de pão francês enriquecido com farinha da semente de abóbora proporcionou um aumento do teor de nutrientes, principalmente as fibras, nestas receitas segundo Lopes [15]. O pão francês enriquecido com farinha da semente de abóbora obteve elevada aceitação sensorial por indivíduos de variadas faixas etárias e classes sociais, constituindo assim uma alternativa para o emprego das sementes com propósitos comerciais. Além dos benefícios nutricionais, existe também o valor biológico agregado. Estudos adicionais revelaram que a farinha da semente de abóbora foi capaz de reduzir os níveis de glicemia e triacilgliceróis em animais tratados com este produto: dieta com farinha de semente de abóbora integral, e dieta com farinha de semente de abóbora peneirada, atuando de forma positiva no metabolismo de lipídios dos animais quando estes receberam doses de 336,7 g/100kg, e 354,7 g/kg respectivamente [10].

Não obstante, as abóboras podem ser utilizadas como antimicrobianos naturais [16], uma vez que as cascas e o extrato metanólico de sementes de *C. pepo* apresentaram atividade contra *S. aureus* e *Salmonella typhi*. O extrato alcóolico de polpa de *Cucurbita pepo* inibiu o crescimento de *S. aureus* e *E. coli* na zona de inibição de 16mm e 6mm respectivamente [17]. Desta forma, demonstramos que estudos adicionais devem ser realizados com as proteínas e outros compostos presentes em diferentes espécies de abóboras, uma que o beneficiamento destes produtos poderia dar origem a diferentes produtos nutracêuticos.

#### 4 CONCLUSÃO

A farinha das sementes de *C. maxima* se mostrou uma importante fonte de proteínas. A extração salina foi eficiente para isolar diversas proteínas presentes nas sementes, alcançando um valor próximo a 93% de recuperação. Por se tratar de uma técnica pouco onerosa, esta informação é de grande valia para o setor nutricional, sendo facilmente escalonada, com potencial de gerar uma fonte econômica a partir de um subproduto pouco explorado. O extrato proteico de sementes de abóboras poderia ser

explorado como suplemento alimentar, atendendo a diferentes propósitos, como o público vegano, além de promover potencial efeito nutracêutico. Pesquisas estão sendo realizadas a fim de avaliar o tempo de prateleira e a estabilidade do extrato proteico de sementes de *C. maxima*, bem como a influencia das diferentes formas de armazenamento e beneficiamento, a fim de obtermos um produto com potencial comercial.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao programa de pós-graduação saúde e desenvolvimento fornecido pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, e ao laboratório de purificação de proteínas e suas funções biológicas.

## REFERÊNCIAS

Kulczyński B, Gramza-Michałowska A. O Perfil de Carotenóides e Outras Moléculas Bioativas em Vários Cultivares de Abóbora (*Cucurbita maxima* Duchesne). Moléculas [Internet]. MDPI AG; 4 de setembro de 2019; 24 (18): 3212. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24183212>

Paul M, Sohag MSU, Khan A, Barman RK, Wahed MII, Khan MRI. Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seeds protect against formaldehyde-induced major organ damages. Heliyon. 2020 Aug 20;6(8):e04587. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04587

Corrêa APC, Silva SDS, D'avila R, Krolow ACR, Zambiasi RC. Perfil de ácidos graxos do óleo de semente de abóboras crioulas (*Cucurbita máxima* L.). Embrapa Clima Temperado. 2013 [citado 21 maio 2021]. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/972995/1/cd2293871RV.pdf>

Salehi B, Sharifi-Raf J, Capanoglu E, Adrar N, Catalkaya G, Shaheen S, *et al.* Cucurbita plants: From farm to industry. Applied Sciences, v. 9, n. 16, p. 3387, 2019. <https://doi.org/10.3390/app9163387>

ABD El-aziz AB, ABD El-kalek HH. Antimicrobial proteins and oil seeds from pumpkin (*Cucurbita moschata*). Nature and Science, v. 9, n. 3, p. 105-119, 2011 [citado 14 maio 2021]. Disponível em: [http://free-journal.umm.ac.id/files/file/16\\_4859ns0903\\_105\\_119.pdf](http://free-journal.umm.ac.id/files/file/16_4859ns0903_105_119.pdf)

Vale C, Loquete F, Zago M, Chiella P, Bernardi D. COMPOSIÇÃO E PROPRIEDADES DA SEMENTE DE ABÓBORA. FJH [Internet]. 20dez.2019 [citado 22 maio 2021];1(4):79-0. Available from: <https://fjh.fag.edu.br/index.php/fjh/article/view/95>

Kabbashi JAS, Koko WS, Mohammed SEA, Musa N, Osman EE, Dahab MM, *et al.* In vitro amoebicidal, antimicrobial and antioxidant activities of the plants *Adansonia digitata* and *Cucurbit maxima*. Advancement in Medicinal Plant Research, v. 2, n. 3, p. 50-57, 2014 [citado 13 abr 2021]. Disponível em: [http://www.netjournals.org/z\\_AMPR\\_14\\_023.html](http://www.netjournals.org/z_AMPR_14_023.html)

Tinoco LP, Porte A, Porte LHM, Godoy RLO, Pacheco S. Perfil de Aminoácidos de Farinha de Semente de Abóbora. Journal of Health Sciences, v. 14, n. 3, 2012. <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2012v14n3p%25p>

PUMAR M, Freitas MCJ, Cerqueira PM; Santangelo SB. Avaliação do efeito fisiológico da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*, L.) no trato intestinal de ratos. Food Science and Technology, v. 28, p. 7-13, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000500002>

Cerqueira PM, Freitas MCJ, Pumar M, Santangelo SB. The pumpkin (*Cucurbita maxima*, L.) seed flour effect on the rat glucose and lipid metabolism. Revista de Nutrição, v. 21, n. 2, p. 129-136, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732008000200001>

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. Nature, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970 [citado 15 abr 2021].

Disponível em: <https://www.nature.com/articles/227680a0#citeas>

Silva MC, Corrêa AD, Santos CD, Marcos FCA, Abreu CMP. Extração da lectina da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e o efeito de cátions divalentes na atividade hemaglutinante. *Food Science and Technology*, v. 30, p. 103-107, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000500017>

Souza TL, Bechtluft MP. Determinação de proteínas totais presentes nos ovos do carrapato *Boophilus microplus*, via espectrofotometria pelo método de Bradford. *SYNTHESIS| Revistal Digital FAPAM*, v. 4, n. 1, p. 147-155, 2013 [citado 15 maio 2021]. Disponível em: <https://periodicos.fapam.edu.br/index.php/synthesis/article/view/66/62>

Bitencourt C, Dutra FLG, Pinto VZ, Helbig E, Borges LR. Elaboração de bolos enriquecidos com semente de abóbora: avaliação química, física e sensorial. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 32, n. 1, 2014. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v32i1.36927>

Lopes MV, Benevides CMJ, Lima JFO, Oliveira LC, Rodrigues JRF, Andrade LL, *et al.* Uso de farinha mista de trigo e semente de abóbora (*Cucurbita* spp) na elaboração de pão francês. *Hig. alim.*, p. 88-93, 2008. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-45342>

Chonoko UG, Rufai AB. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Cucurbita pepo* (Pumpkin) against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, v. 4, n. 1, p. 145-147, 2011. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v4i1.30>

AL-Ghazal TA. Evaluation of Antibacterial Effect of *Cucurbita pepo* (Yakten) Extracts on Multi-antibiotic Resistance Bacterial Strains Isolated From Human Urinary Tract Infections. *Rafidain Journal of Science*, 2012; 23(3): 1-7. doi: 10.33899/rjs.2012.44363