

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA

PRISCILA SANTOS MARTINS DIAS

**COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE
COMPOSTOS FENÓLICOS E ECOTOXICIDADE DA POLPA DE FRUTOS DE
PITAIA BRANCA (*Hylocereus undatus*) E PITAIA VERMELHA (*Hylocereus
polyrhizus*)**

JUIZ DE FORA
2016

PRISCILA SANTOS MARTINS DIAS

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ECOTOXICIDADE DA POLPA DE FRUTOS DE PITAIA BRANCA (*Hylocereus undatus*) E PITAIA VERMELHA (*Hylocereus polyrhizus*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para graduação em Farmácia e obtenção do título de Farmacêutica.

Orientadora: Prof^a Dr^a ELIZABETH LEMOS CHICOUREL

**JUIZ DE FORA
2016**

PRISCILA SANTOS MARTINS DIAS

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ECOTOXICIDADE DA POLPA DE FRUTOS DE PITAIA BRANCA (*Hylocereus undatus*) E PITAIA VERMELHA (*Hylocereus polyrhizus*)

Objetivo:

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA

Aprovado em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Elizabeth Lemos Chicourel.(Orientadora)
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Profª Drª Fabíola Dutra Rocha
Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Prof. Ms. César Augusto Caneschi
Fundação Presidente Antônio Carlos – FUPAC UBÁ

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Santos Martins Dias, Priscila.

Composição centesimal, atividade antioxidante, teor de compostos fenólicos e ecotoxicidade da polpa de frutos de pitaiá branca (*Hylocereus undatus*) e pitaiá vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) / Priscila Santos Martins Dias. -- 2016.

63 p.

Orientadora: Elizabeth Lemos Chicourel

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, 2016.

1. Pitaiá. 2. Composição centesimal. 3. Atividade antioxidante. 4. Derivados fenólicos. 5. Artemia Salina. I. Lemos Chicourel, Elizabeth, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Leila e Cláudio, pois sem eles eu não chegaria tão longe e nem sonharia em alcançar cada vez mais sucesso em minha caminhada! Agradeço também aos meus irmãos, Plínio, Pablo, Laís (irmã de coração) e toda a minha família, ter vocês por perto é incrível.

Agradeço profundamente à minha orientadora, Beth, pelo companheirismo e dedicação, pelo apoio durante esses meses e por sempre estar presente durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Aos amigos do laboratório de Farmacognosia, especialmente a Celinha, Fabíola, Letícia e Luana que me acompanharam e auxiliaram em cada passo.

Aos colegas do Níqua, principalmente Nádia e César, que estiveram presentes em pontos cruciais dos experimentos e tornaram esse trabalho possível.

Ao João Pablo e Paulo Henrique da Faculdade de Nutrição, assim como à Louise e Vanessa do Laboratório de Água e Alimentos, que auxiliaram de forma inegável na composição centesimal.

Aos amigos que fiz durante toda a minha caminhada pela UFJF, desde o primeiro período, nas iniciações científicas, aulas e estágios que passei. Tenho certeza que levo um pedacinho de cada um em mim.

Enfim, a todos os mestres que tive na Faculdade de Farmácia e na vida, pois com eles o caminho se tornou menos árduo, e a caminhada se mostrou possível.

RESUMO

A utilização de espécies exóticas na alimentação humana vem ganhando cada vez mais espaço. Entretanto, ainda são poucas as informações científicas sobre o potencial nutricional e funcional dessas espécies. A pitiaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e a pitiaia branca (*Hylocereus undatus*), também conhecidas como “*Dragon Fruit*” (fruta-do-dragão), se encaixam nesse contexto. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi realizar a caracterização química e determinar a capacidade antioxidante da polpa das pitaias vermelha e branca coletadas no horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, bem como, avaliar a toxicidade dos extratos obtidos a partir dessas polpas. A caracterização química das pitaias foi feita por meio de análise laboratorial da composição centesimal. A atividade antioxidante foi medida pelo método do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). O teor de fenólicos totais foi determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu e a toxicidade dos extratos obtidos a partir da polpa desses frutos foi verificada por meio do ensaio com o microcrustáceo *Artemia salina*. Os resultados da composição centesimal em base seca, para as pitaias vermelha e branca, respectivamente, expressos em %p/p (g/100g) foi de $85,70 \pm 1,12$ e $85,26 \pm 0,62$ para carboidratos; de $7,33 \pm 0,85$ e $8,18 \pm 0,17$ para proteínas; de $2,19 \pm 0,10$ e $2,45 \pm 0,15$ para lipídios e de $4,77 \pm 0,05$ e $4,11 \pm 0,09$ para cinzas. Os extratos da polpa foram obtidos utilizando metanol/água (80:20). A atividade antioxidante na CE_{50} , foi de $327,26 \pm 4.47$ $\mu\text{g/mL}$ e $737,72 \pm 2.08$ $\mu\text{g/mL}$ para pitaias branca e vermelha, respectivamente, valores considerados baixos para esse método. O teor de fenólicos encontrado para a pitiaia branca foi de $678,80 \pm 64,13$ mg EAG/100g e de $503,41 \pm 52,06$ mg EAG/100g para a pitiaia vermelha. O coeficiente de Pearson para as pitaias vermelha e branca, respectivamente, foi de 0,9563 e 0,9949, sendo a relação entre concentração de fenólicos e atividade antioxidante considerada como muito forte. O ensaio de toxicidade frente a *Artemia Salina* resultou em valores de DL_{50} de 1148,14 $\mu\text{g/mL}$ and 1515,98 $\mu\text{g/mL}$ para pitaias branca e vermelha, respectivamente, sendo ambas, portanto, não tóxicas. Portanto, a pitiaia é uma fruta com potencial para ser incorporada na dieta dos brasileiros.

Palavras-chave: Pitiaia. Composição centesimal. Atividade antioxidante. Compostos fenólicos. *Artemia Salina*.

ABSTRACT

Exotic species' use is increasingly gaining ground in human food. However, there is little scientific information about nutritional and functional potential of these species. Red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) and white pitaya (*Hylocereus undatus*), also known as "Dragon Fruit", fit in this context. This study aimed at performing chemical characterization and determining antioxidant capacity of the red and white pitaya flesh collected in Faculty of Pharmacy of the Federal University of Juiz de Fora, as well as evaluating the toxicity of the extracts obtained from these pulps. Pitaya's Chemical characterization was done through laboratory analysis of the centesimal composition. Antioxidant activity was measured by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical method (DPPH). Total phenolic content was determined using Folin-Ciocalteu method and the toxicity of the extracts obtained from the pulp of these fruits was verified by tests with the micro crustaceous *Artemia salina*. Centesimal composition's results on dry basis, for red and white pitayas, respectively, expressed in %p/p (g/100g) was 85.70 ± 1.12 and 85.26 ± 0.62 for carbohydrates; 7.33 ± 0.85 and 8.18 ± 0.17 for proteins; 2.19 ± 0.10 and 2.45 ± 0.15 for lipids and 4.77 ± 0.05 and 4.11 ± 0.09 for ashes. Pulp extracts were obtained using methanol/water (80:20). The antioxidant activity in IC_{50} was $327.26 \pm 4.47 \mu\text{g/mL}$ and $737.72 \pm 2.08 \mu\text{g/mL}$ for white and red pitayas, respectively, considered low for this method. Phenolics' content found for white pitaya was $678.80 \pm 64.13 \text{ mg GAE/100g}$ and $503.41 \pm 52.06 \text{ mg GAE/100g}$ for red pitaya. Phenolics' content found for white pitaya was $678.80 \pm 64.13 \text{ mg GAE/100g}$ and $503.41 \pm 52.06 \text{ mg GAE/100g}$ for red pitaya. The Pearson coefficient for the red and white Pitaya, respectively, was 0.9563 and 0.9949, with the ratio between phenolic concentration and antioxidant activity being considered very strong. The toxicity test against *Artemia Salina* resulted in ED_{50} values of $1148.14 \mu\text{g/mL}$ and $1515.98 \mu\text{g/mL}$ for white and red pitaya, respectively, both were, therefore, non-toxic. Therefore, pitaya is a fruit with potential to be incorporated into Brazilians' diet.

Keywords: Pitaya. Centesimal composition. Antioxidant activity. Phenolic compounds. *Artemia Salina*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fruto maduro aberto - Pitaia vermelha (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	15
Figura 2 - Fruto maduro aberto - Pitaia branca (<i>Hylocereus undatus</i>)	16
Figura 3 - Sequência dos eventos fenológicos que ocorreram durante o período reprodutivo da pitaia no horto da Faculdade de Farmácia da UFJF (2016).....	19
Figura 4 - Redução do O ₂ pela transferência univalente de elétrons e formação de intermediários reativos.....	25
Figura 5 - Forma radicalar (1) e não-radicalar (2) do 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).....	32

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Atividade antioxidante pitiaia vermelha (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)..	48
Gráfico 2 -	Atividade antioxidante pitiaia branca (<i>Hylocereus undatus</i>).....	49
Gráfico 3 -	Curva analítica de ácido gálico.....	51

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1 - Espécies reativas de oxigênio (ERO)	23
Tabela 1 - Teores de macronutrientes e de resíduo mineral fixo da polpa liofilizada de pitaiá vermelha (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) e branca (<i>Hylocereus undatus</i>) do horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, 2016.....	46
Tabela 2 - Avaliação da correlação de Pearson, concentração de metabólitos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante pelo método DPPH nos extratos da polpa das pitaias vermelha e branca do horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, 2016.....	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	A PITAIA.....	15
2.1.1	Cultivo e manejo.....	17
2.1.1.1	Formação de mudas	17
2.1.1.2	Floração e frutificação	18
2.1.2	Composição nutricional.....	20
2.1.3	Capacidade antioxidante	21
2.2	RADICAIS LIVRES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	22
2.2.1	Funções fisiológicas mediadas por ERO e ERN	24
2.2.2	Sistemas antioxidantes do organismo	25
2.2.3	Antioxidantes exógenos naturais	28
2.3	MÉTODOS PARA VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	30
2.4	ENSAIO DE TOXICIDADE.....	33
3	OBJETIVOS.....	34
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	MATERIAL VEGETAL.....	35
4.2	EQUIPAMENTOS.....	35
4.3	LIOFILIZAÇÃO	35
4.4	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	36
4.4.1	Umidade	36
4.4.2	Resíduo mineral fixo – Cinzas.....	37
4.4.3	Proteínas totais.....	38
4.4.4	Fração lipídica	39
4.4.5	Carboidratos totais	40
4.5	OBTENÇÃO DO EXTRATO VEGETAL.....	40
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE REDUÇÃO DO RADICAL 2,2- DIFENIL-1-PICRILIDRAZILA (DPPH)	41

4.7	TEOR DE METABOLITOS FENÓLICOS TOTAIS.....	42
4.8	ENSAIO DE TOXICIDADE.....	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1	RENDIMENTO DOS EXTRATOS VEGETAIS.....	45
5.2	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	45
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE REDUÇÃO DO RADICAL 2,2- DIFENIL-1-PICRILIDRAZILA (DPPH)	47
5.4	TEOR DE METABÓLITOS FENÓLICOS TOTAIS.....	51
5.4.1	Correlação do teor de metabólitos fenólicos com a atividade antioxidante pelo método DPPH.....	52
5.5	ENSAIO DE TOXICIDADE.....	54
6	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

A incorporação de plantas alimentícias não convencionais (PANC) na alimentação vem se tornando cada vez mais evidente, levando à crescente necessidade do estudo e caracterização dos mesmos. A pitiaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e a pitiaia branca (*Hylocereus undatus*), também conhecidas como “*Dragon Fruit*”, se encaixam nesse perfil, sendo assim uma fonte de pesquisa (CHAVES, 2016; NUNES et al., 2014).

Devido ao sabor doce e suave da pitiaia, da polpa firme e repleta de sementes, e de suas propriedades nutricionais e funcionais, essa fruta possui grande aceitação nos mercados consumidores, o que tem despertado o interesse nos produtores. O alto valor pago pelo quilo da fruta, que pode variar de dez a sessenta reais, dependendo da época do ano e da demanda, também constitui um grande atrativo para o plantio dessa frutífera em escala comercial (LIMA et al., 2013; NUNES et al., 2014; ORTIZ; TAKAHASHI, 2015).

Normalmente o consumo da fruta é ao natural, no entanto, a polpa congelada pode ser usada para a produção de sorvetes, iogurtes, geleias, conservas, compotas, sucos, doces e bolos (COSTA, 2012). Ademais, a pitiaia também pode ser utilizada comercialmente como fonte da enzima protease (AMID; MANAP; ZOHD, 2014).

Sendo produzida por uma cactácea trepadeira originária do México, América Central e do Sul, a pitiaia apresenta um cultivo promissor e é procurada não só pelo seu exotismo, como também pelas suas características organolépticas, nutricionais e funcionais. Os compostos bioativos presentes na pitiaia, tanto na polpa como na pele, têm sido estudados devido ao seu potencial na prevenção de doenças, principalmente as relacionadas ao estresse oxidativo, como as cardiovasculares, o diabetes, o câncer e as doenças inflamatórias (ADNAN; OSMAN; HAMID, 2011; COSTA, 2012; KIM et al., 2011).

Além disso, a pitiaia é rica nos pigmentos naturais betalaínas que possuem atividade antioxidante e potencial para serem extraídos e utilizados na indústria alimentícia e cosmética (ADNAN; OSMAN; HAMID, 2011; ESQUIVEL; STINTZING; CARLE, 2007; SUH et al., 2014). Sua polpa possui diminutas sementes ricas em ácidos graxos essenciais e outros derivados lipídicos que também possuem

atividade antioxidante (ADNAN; OSMAN; HAMID, 2011; KAMAIRUDIN, et al., 2014; TZE et al., 2012).

O potencial antioxidante e nutricional da pitáia tem despertado a atenção de pesquisadores em todo o mundo. A pitáia tem sido relatada como sendo fonte de vitaminas do complexo B como a tiamina (B₁), a riboflavina (B₂) e a niacina (B₃), de substâncias terpênicas como o betacaroteno (pró vitamina A), o licopeno e a vitamina E, de polifenóis, de vitamina C, de minerais como o potássio, o magnésio e o cálcio, do pigmento natural betalaína, de carboidratos e de ácidos graxos essenciais. A capacidade antioxidante da pitáia é dada principalmente pela presença de compostos como o ácido ascórbico, carotenóides e polifenóis, sendo essa ação benéfica bastante visada para combater o estresse oxidativo no corpo, prevenindo doenças degenerativas (ABREU et al., 2012; COSTA, 2012).

A produção de radicais livres é normal no metabolismo sendo relevante em várias funções como fagocitose, cadeia respiratória, sinalização celular e regulação gênica. Nos momentos em que a concentração de espécies reativas se torna aumentada o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante para que o equilíbrio seja restabelecido, e isso está diretamente relacionado com uma boa dieta e com enzimas designadas para esse fim. Portanto, o consumo e a utilização tópica de produtos naturais, contendo compostos antioxidantes, são relacionados a uma menor incidência de doenças já descritas como associadas ao estresse oxidativo como Alzheimer, câncer, entre outras (JUSTUS, 2014). Ramli e colaboradores (2014) comprovaram a eficiência da proteção cardiovascular e hepática da suplementação de suco de pitáia vermelha em ratos obesos e com síndrome metabólica induzida.

Com uma preocupação crescente a respeito da segurança de utilização de antioxidantes sintéticos, como o butilhidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitolueno (BHT), é destacada também a relevância de um campo de pesquisa relacionada com produtos naturais que apresentem essas propriedades (KIM et al., 2011).

Tendo em vista esses benefícios, esse trabalho teve como objetivo o estudo do tema e dos parâmetros nutricionais, a verificação da atividade antioxidante, a quantificação de fenólicos e a ecotoxicidade da polpa dos frutos da pitáia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e da pitáia branca (*Hylocereus undatus*) coletadas no horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A PITAIA

A flora nacional possui uma multiplicidade de espécies vegetais e isso está relacionado à diversidade climática ao longo do território brasileiro. Das espécies conhecidas por produzirem frutos comestíveis existem várias já inseridas diariamente na dieta brasileira, assim como também existem alguns frutos poucos conhecidos que poderiam ser incorporados a alimentação como, por exemplo, a pitaia (PEREIRA, 2011).

A parte comestível do fruto, o mesocarpo (polpa), possui diminutas sementes pretas distribuídas de forma homogênea e representa de 60 a 80% do peso em frutos maduros. Ela apresenta textura mucilaginosa e possui um rendimento de cerca de 55% do fruto, podendo variar entre as espécies (LIMA et al., 2013).

Na Figura 1, podemos observar o fruto maduro aberto da pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e na Figura 2, a branca (*Hylocereus undatus*).

Figura 1 - Fruto maduro aberto - Pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*)



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 2 - Fruto maduro aberto - Pitaia branca (*Hylocereus undatus*).



Fonte: Arquivo pessoal

Esse fruto é considerado um dos mais belos do mundo e é conhecido por vários nomes por onde passa. Assim, ele é batizado segundo algumas características observadas na planta. Um desses nomes é “rainha da noite”, por suas flores que se abrem em uma só noite. “Fruta do dragão”, ou *Dragon Fruit*, também é um dos nomes dados, e se deve às escamas presentes no fruto, que se assemelham com a pele de dragão (ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2007). O nome “pitaia” originou-se do termo “pitahaya”, que significa fruta escamosa. Ele se refere a um povo chamado Tainos, os quais viviam em ilhas na América Central (NUNES et al., 2014).

As pitaias vermelha e branca têm sua origem na América do Norte, mais precisamente no México, e também Américas Central e do Sul e pertence à família *Cactaceae* e ao gênero *Hylocereus* (ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2007; COSTA, 2012). Há relatos em documentos históricos que a pitaia era uma fruta popular para a população Asteca que vivia nesses continentes (KIM et al., 2011).

O maior produtor e exportador mundial dessa fruta é o Vietnã, mas ela é largamente cultivada em outros países asiáticos como a Malásia e a Tailândia (SUH et al., 2011). É também cultivada comercialmente na Colômbia, na Nicarágua, na Austrália e em Israel (KHALILI; ABDULLAH; MANAF, 2012). Já no Brasil, as áreas de maior destaque para a produção de pitaia estão no Sudeste de São Paulo, na região de Catanduva, onde a cultura da pitaia se aclimatou muito bem, com produção de frutos nos meses de dezembro a maio (CALDAS; VERSLYPE, 2016; MOREIRA et al., 2011;). Existem diversos plantios distribuídos no Brasil, sendo alguns desses na região da Chapada do Apodí, nos municípios de Limoeiro do Norte

e Quixeré, estado do Ceará, onde as plantas produzem frutos o ano inteiro (NUNES et al., 2014).

Ela é uma planta perene e epífita, ou seja, vive sobre outras plantas e rochas ou necessita de estaca. Quando utilizada a estaca, o comprimento da mesma é de fundamental importância, já que influencia diretamente nas reservas de carboidratos e nas auxinas endógenas (hormônio vegetal), o que por sua vez interfere no número e tamanho de brotações, na sobrevivência, e no tempo de emissão de raízes durante o crescimento inicial (PONTES FILHO et al., 2014).

A pitiaia possui ramos suculentos, classificados morfologicamente como cladódios, de coloração verde, trígonos com pouco mais de 20 centímetros e acúleos de 1 a 4 milímetros de comprimento. Apesar de ter preferência por climas quentes, a pitiaia pode adaptar-se desde climas áridos até tropicais ou subtropicais, sendo pouco exigente em relação à qualidade do solo (DONADIO, 2009; NUNES et al., 2014; PONTES FILHO et al., 2014). Também é importante salientar que suas raízes são fibrosas e fartas, apresentando também raízes adventícias, que auxiliam na obtenção de nutrientes e na sustentação da planta (ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2007; SILVA; MARTINS; CAVALLARI, 2011).

2.1.1 Cultivo e manejo

2.1.1.1 Formação de mudas

Para a propagação da pitiaia, geralmente é utilizado o método de estaquia, que consiste no estímulo do enraizamento de parte dos caules para formação de uma nova planta. Esse procedimento de propagação vegetativa é desejável, visto que é um método assexuado e que leva a produção de novas plantas idênticas à planta-base (MARQUES et al., 2012). Ao utilizar esse método o florescimento ocorre após 1 ou 2 anos (PONTES FILHO et al., 2014). Contudo, a utilização de método sexuado pode ser positivo quando o foco é o melhoramento genético, podendo aumentar sua variabilidade (ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2007).

Por ser oriunda de florestas úmidas da América tropical e subtropical, a pitiaia pode sofrer grandes danos e até morrer quando cultivada sob luminosidade intensa. Em várias destas cactáceas, a atividade fotossintética e o crescimento das plantas inibem-se quando crescem em locais expostos à radiação solar total, levando a um

amarelamento dos cladódios. (SILVA; MARTINS; CAVALLARI, 2011). Porém, ao ser cultivada em sombreamento excessivo, o desenvolvimento da planta pode ser prejudicado resultando em estiolamento de cladódios, favorecimento da proliferação de fungos e severa redução do florescimento, afetando assim a produção (SILVA et al., 2015).

A família a qual a pitaiá pertence é formada por vegetais que necessitam de pouca água, portanto, deve-se ter o cuidado de não deixá-la com um excesso de umidade no enraizamento, que pode levar ao apodrecimento e ao não desenvolvimento geral da planta (MARQUES et al., 2012).

2.1.1.2 Floração e frutificação

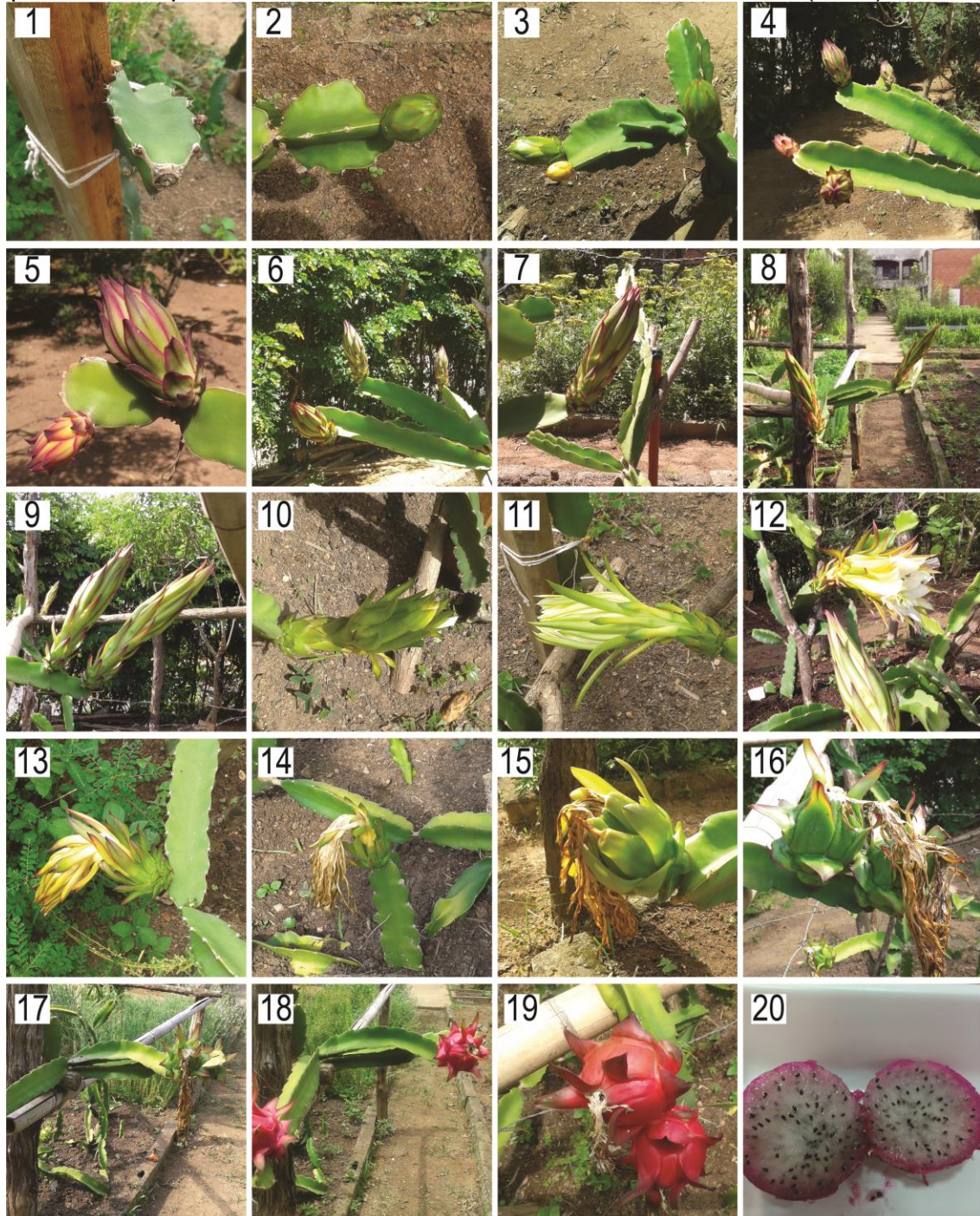
Na região sudeste as flores geralmente aparecem no início do verão e perduram de dezembro a março, apresentando de três a cinco períodos de floração. Observa-se o fim da frutificação no outono, ou seja, sua produção começa em janeiro e pode ir até o mês de maio. A partir disso, pode-se dizer que a precipitação e as altas temperaturas intensificam e levam a uma maior reprodução (MARQUES et al., 2011).

Suas flores são grandes (20 a 30 cm de largura), perfumadas, hermafroditas, e se apresentam com uma coloração branca ou rosada, e se abrem somente uma noite e fechando nas primeiras horas da manhã seguinte (ANDRADE; MARTINS; SILVA, 2007; SILVA; MARTINS; CAVALLARI, 2011). O botão floral demora de 19 à 21 dias para se desenvolver. Já o fruto matura num período de 30 a 40 dias após a flor se abrir (antese). O tempo total desde o botão floral até os frutos se apresentarem próprios para consumo dura aproximadamente de 50 a 60 dias (MARQUES et al., 2011).

O fruto das pitaias vermelhas e brancas é uma baga que possui diâmetro de cerca de 10 a 20 cm, com formato globuloso e subglobuloso, apresenta coloração externa verde quando imatura e vermelha quando madura, além de ser coberto por brácteas (escamas). A polpa apresenta cores que variam do vermelho-púrpura brilhante ao branco, com inúmeras sementes escuras comestíveis que se encontram distribuídas por toda a polpa (ALVES; GODOY; CORREA, 2011; NUNES et al., 2014).

O processo de floração foi documentado com imagens no horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, no verão de 2016 (Figura 3).

Figura 3 - Sequência dos eventos fenológicos que ocorreram durante o período reprodutivo da pitiaia no horto da Faculdade de Farmácia da UFJF (2016).



(1) aparecimento do botão floral; (2 a 9,) alongamento do botão floral; (10 e 11) início do desprendimento das sépalas; (12) abertura da flor; (13 e 14) flor polinizada, (15 a 17) fruto em crescimento, (18 e 19) maturação do fruto; (20) fruto maduro cortado transversalmente.

Fonte: Arquivo Pessoal

2.1.2 Composição nutricional

A pitiaia é conhecida no exterior por possuir uma ampla gama de compostos bioativos benéficos à saúde, porém ainda são poucas as informações disponíveis, no Brasil e no mundo, sobre a composição química desse fruto. As tabelas de composição química de alimentos disponíveis no Brasil não dispõem de dados sobre essa fruta. Estudos mais aprofundados de sua composição se fazem necessários para que se adquira um maior conhecimento acerca da contribuição nutricional dessa fruta na dieta do brasileiro (ABREU et al., 2012).

Os poucos estudos sobre sua composição nutricional mostram que a pitiaia não apresenta um conteúdo diferenciado se compararmos com outras frutas, principalmente com frutas tropicais. A pitiaia contém muita umidade, poucos lipídios e proteínas, maior quantidade de carboidratos, e quantidades de minerais e de vitaminas que não se destacam em relação a outras frutas. O que chama a atenção para inúmeros estudos é a quantidade de compostos bioativos, principalmente pigmentos e metabólitos fenólicos. Esses metabólitos especiais, nos vegetais, podem estar relacionados com sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento e defesa, mas nos seres humanos, em baixas concentrações, desempenham um importante papel de proteção como agentes antioxidantes, capazes de retardar ou inibir a oxidação de diversos substratos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; NUNES et al., 2014).

Em sua polpa observa-se a presença de beta-caroteno, licopeno e oligossacarídeos não digeríveis com característica prebiótica (WHICHENCHOT; JATUPORNPIPAT; RASTALL, 2010). Os oligossacarídeos presentes na pitiaia são resistentes ao pH ácido do estômago e parcialmente resistentes a α -amilase e possuem atividade prebiótica, ou seja, servem de alimento seletivo para os *Lactobacillus* e as bifidobactérias do intestino (ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012).

As pequenas sementes pretas distribuídas em sua polpa são constituídas em 50% de ácidos graxos essenciais, sendo 48% de ácido linoléico (ômega-6) e 1,5% de ácido linolênico (ômega-3). O óleo da semente de pitiaia é uma fonte natural de antioxidantes, pois contém metabólitos fenólicos, tocoferóis e esteróis (LIM, et al., 2010; ORTIZ-HERNÁNDEZ; CARRILLO-SALAZAR, 2012). A existência desses compostos, além dos ácidos graxos insaturados, faz com que o óleo das sementes

de pitáia, quando incorporado a cosméticos, ajude a equilibrar o metabolismo da pele, nutrindo-a (KAMAIRUDIN et al., 2014). Estudos também relacionam o óleo da pitáia com suave atividade laxante e hipocolesterolêmica (colesterol total e colesterol de baixa densidade – LDL) (NUNES et al., 2014).

A importância nutricional dessa fruta está relacionada também com a presença de quantidades consideráveis de carboidratos, vitamina E (0,26 µg/100g), beta-caroteno (1,4 µg/100g), licopeno (3,4 µg/100g), ácido ascórbico, (BELTRÁN-OROZCO et al., 2009; WHICHIENCHOT; JATUPORNPIPAT; RASTALL, 2010) além de vitaminas B₁, B₂ e B₃, polifenóis, potássio, magnésio e cálcio (ABREU et al., 2012; COSTA, 2012).

2.1.3 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante da pitáia se deve, principalmente, pela relação entre as quantidades significativas de ácido ascórbico, carotenoides, (ABREU et al., 2012) betalaínas e compostos fenólicos contidos na fruta, fazendo com que ela tenha um potencial para ser considerada como alimento funcional (FATHORDOOBADY et al., 2016; TENORE; NOVELLINO; BASILE, 2012).

A betalaína, presente tanto na casca quanto na polpa da pitáia, é um pigmento solúvel em água e contém ácido betalâmico em sua estrutura. Esse pigmento é conhecido pela sua coloração avermelhada e amarelo-alaranjado, assim como pelas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e quimiopreventiva (GARCÍA-CRUZ et al., 2013; SUH et al., 2014; WU et al., 2006).

Esse pigmento, que é um composto N-heterocíclico que está presente no vacúolo das plantas. Além disso, as betalaínas são divididas em dois grupos, as betaxantinas e as betacianinas, sendo que as betaxantinas possuem coloração amarelo-alaranjado e as betacianinas têm cor vermelho-púrpura, e elas são responsáveis pelas diferentes cores das flores e dos frutos (GARCÍA-CRUZ et al., 2013; LIM, et al., 2010; NUNES et al., 2014).

Contudo, a betalaína não é tão estudada quanto outros pigmentos (como antocianidina e carotenoides) por não ser amplamente distribuída entre as flores e frutos mais comuns. A maior fonte de obtenção de betalaínas atualmente é a beterraba, mas ela apresenta substâncias como geosmina e pirazina que levam a um sabor desagradável de terra, além de possuir alto conteúdo de nitrato. Já o

material extraído na pitia não apresenta esses compostos, podendo ser utilizado como pigmento em alimentos que apresentam um sabor característico e que não podem sofrer influência de sabores secundários (MELLO et al., 2015; TZE et al., 2012). Tze e colaboradores (2012) chamam a atenção para os benefícios da utilização do fruto inteiro como agente colorante, uma vez que além do propósito de agregar cor ao produto agregaria também valor nutricional.

Os compostos fenólicos também estão muito presentes na composição da pitia (ABREU, 2012). Esses compostos possuem anel aromático e, ligado a ele, um ou mais grupos hidroxila. Essa classe de substâncias é conhecida por sua capacidade antioxidante. A posição e quantidade de grupos hidroxila nos fenólicos determinam o potencial antioxidante da molécula (SILVA et al., 2010).

A interação dos radicais livres com os compostos fenólicos faz com que os radicais sejam consumidos durante a reação. Esse processo é relevante na redução de riscos de saúde, mas também podem ser utilizado para conservar a qualidade de alimentos já que é capaz, por exemplo, de reduzir a oxidação lipídica em tecidos vegetal e animal (ANGELO; JORGE, 2007; MAHATTANATAWEE et al., 2006).

2.2 RADICAIS LIVRES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As várias moléculas e radicais, as quais são denominadas espécies oxidantes, são produzidas principalmente a partir do metabolismo aeróbico. Elas possuem um papel no organismo e atuam no processo fisiológico normal, porém, quando produzidas em excesso, podem levar ao dano celular e a processos patológicos (SILVA; GUERRA, 2010).

As células que são atacadas pelos radicais podem alterar o código genético pela destruição de pares de bases do DNA, reduzir a expressão gênica pela alteração de fatores de transcrição, ativar ou desativar enzimas fundamentais para o desempenho de funções vitais para as células, romper a parede celular através da oxidação lipídica, dentre outros. Portanto, a degradação causada pode levar à perda parcial ou total das funções fisiológicas do organismo, promovendo danos que colaboram para o aparecimento de doenças degenerativas e para o envelhecimento precoce (SELLÉS, 2011).

Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem em sua estrutura um ou mais elétrons não emparelhados, e essa definição inclui a maioria dos íons

dos metais de transição, o oxigênio molecular e o átomo de hidrogênio, que tem um elétron não emparelhado (RIBEIRO et al., 2005).

Pode-se evidenciar a elevada capacidade desses radicais de formar novos radicais livres através de reações em cadeia, além de serem considerados extremamente reativos. Essa reatividade se dá pela instabilidade dos radicais, o que os faz reagir mais rapidamente com outros componentes químicos. Para que a instabilidade cesse é necessário que se doe ou retire um elétron de outra molécula (SELLÉS, 2011).

As principais espécies reativas de oxigênio (ERO) estão organizadas no Quadro 1 abaixo, sendo importante frisar que nem todas as espécies reativas de oxigênio são radicalares, como por exemplo o ozônio e o peróxido de hidrogênio (COTINGUIBA et al., 2013).

Quadro 1 - Espécies reativas de oxigênio (ERO)

O₂^{•-}	Ânion Superóxido ou radical superróxido
HO[•]	Radical hidroxila
RO[•]	Radical alquila
HO₂[•]	Radical hidroperoxila
ROO[•]	Radical peróxido
ROOH	Hidroperoxido orgânico
RCO₂	Carbonila excitada
O₃	Ozônio
¹O₂	Oxigênio Singleto
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio

R representa um grupo orgânico ou o hidrogênio

Também são importantes as espécies reativas de nitrogênio (ERN), das quais podemos citar o íon peroxinitrito (ONOO⁻), o óxido nítrico (NO[•]) e o radical dióxido de nitrogênio (NO₂[•]). O ânion peroxinitrito (ONOO⁻) e o ácido hipocloroso (HOCl) não são considerados radicais livres, mas podem desencadear a produção dos mesmos, e por isso estão enquadradas como espécies reativas (JUSTUS, 2014). Ademais, temos outros exemplos que podem levar à formação de novos radicais livres, como exemplo: radicais tiíla (RS[•]), cloraminas (R₂NCl e RNCl₂ – onde R representa um

grupo orgânico ou o hidrogênio), cloreto de nitrila (NO_2Cl) e metais de transição (Fe, Cu, Mn, etc.) (VASCONCELOS, 2007).

2.2.1 Funções fisiológicas mediadas por ERO e ERN

Existem vários fatores externos que podem induzir a formação de radicais livres no organismo, como o ozônio, radiação, dieta, cigarro, xenobióticos, sedentarismo, poluição do ar, estresse psicológico, entre outros. Esses fatores levam a um aumento exagerado de radicais no organismo, assim como quando o corpo não consegue manter o equilíbrio da formação endógena de radicais com os mecanismos antioxidantes que possui (SILVA; JASIULIONIS, 2014).

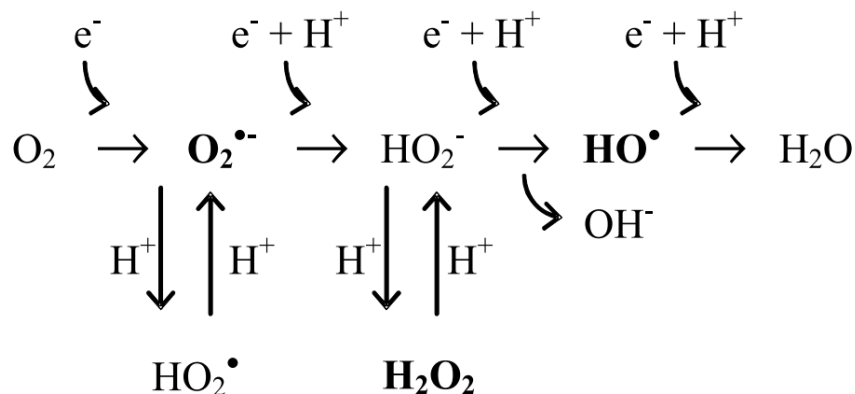
Sabendo que os radicais também possuem uma fonte endógena importante, podemos observar que as ERO e as ERN também são criadas com o objetivo de regular diversas funções no organismo. E podem ser formadas a partir da ação de enzimas como NO sintase (NOS) e NAD(P)H oxidase, que geram o óxido nítrico e radical superóxido, por exemplo. Os radicais produzidos pelos leucócitos podem atuar contra agentes infecciosos, além de as ERO também terem papel fundamental na adesão celular, apoptose e cicatrização. Se tomarmos como exemplo um processo cancerígeno dizemos que as ERO podem estar relacionadas com uma cascata de sinalização intracelular que mantém as células cancerígenas ou, por outro lado, induzir a apoptose celular tendo uma função antitumoral, não podendo, assim, serem classificadas nem como heroínas nem como vilãs (VALKO et al., 2007).

A produção de radicais livres é normal no metabolismo, sendo relevante em várias funções como fagocitose, cadeia respiratória, sinalização celular e regulação gênica (VICENTINO; MENEZES, 2007). Por isso, podemos dizer que os radicais são importantes ferramentas para as mitocôndrias, os peroxissomos e as células inflamatórias. Vale também ressaltar que o estresse oxidativo também tem relevância comprovada no envelhecimento caracterizado pelo declínio das funções fisiológicas, já que os danos causados pelos agentes oxidantes são cumulativos ao longo da vida (SILVA; JASIULIONIS, 2014).

Nos organismos aeróbicos o principal meio de metabolizar o oxigênio implica na sua total redução em água. Ela se dá pela incorporação de quatro elétrons pelo oxigênio, e esse processo acontece mediado pelas enzimas mitocondriais (SILVA;

GONÇALVES, 2010). Porém, durante essa reação, pode ocorrer uma redução incompleta do O_2 na cadeia de transporte de elétrons, que acontece na membrana da mitocôndria, e isso levar à produção de ERO, como demonstrado na Figura 4 (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICIOLO, 2007).

Figura 4 - Redução do O_2 pela transferência univalente de elétrons e formação de intermediários reativos



FONTE: GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICIOLO, 2007

Apesar de serem geradas em situações naturais do metabolismo ou de possuírem uma função específica no funcionamento celular, as espécies reativas podem desencadear efeitos patológicos quando em excesso. As substâncias oxidantes apresentam diferenças quanto às suas propriedades físicas e químicas, e seu efeito deletério pode ser favorecido pela presença de metais de transição, como o ferro e o cobre, que atuam como catalisadores nas reações de peroxidação (SILVA; GUERRA, 2010).

2.2.2 Sistemas antioxidantes do organismo

Os organismos possuem vários mecanismos para se protegerem contra a oxidação indesejável, e para isso, conta com mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos. O primeiro sistema a agir é o enzimático, ele evita o acúmulo de peróxido de hidrogênio e do ânion radical superóxido. Esse sistema é formado por várias enzimas, das quais podemos citar a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutadiona peroxidase (GPx) (COTINGUIBA et al., 2013). Dentre os antioxidantes não-enzimáticos de origem endógena podemos citar: glutathiona

reduzida (GSH), melatonina, ácido úrico, ubiquinona, proteínas de transporte de metais de transição (transferrina), entre outros (BRITO, 2012).

a) Superóxido dismutase (SOD)

Sendo um antioxidante enzimático, é importante ressaltar que a superóxido dismutase (SOD) é uma metaloenzima que serve como catalisadora para transformação do radical $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 . que é um composto menos reativo e pode ser degradado pelas enzimas CAT e GPx. A SOD pode ser encontrada no organismo em várias formas, dentre elas Cu/Zn-SOD e Mn-SOD. A Mn-SOD está envolvida principalmente na proteção da mitocôndria dos superóxidos que são produzidos durante o processo de respiração. Já a Cu/Zn-SOD é a isoforma que possui sua função biológica baseada na retirada de ânions superóxido do citoplasma, e, presumivelmente, também do peroxissoma. Vale ressaltar que essa última isoforma citada apresenta maior resistência à desnaturação e à variação de temperatura (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

b) Catalase (CAT)

Com atividade dependente de NADPH, a catalase (CAT) é uma heme proteína citoplasmática que atua como catalisadora, transformando H_2O_2 em H_2O e O_2 . Assim, essa enzima tira de circulação o H_2O_2 que é deletério às células por atacar os ácidos graxos insaturados presentes nas membranas, além de proteínas. Porém, a CAT se comporta de forma inativa ao lidar com hidroperóxidos orgânicos, mas esses compostos podem ser tratados pela GPx que é altamente ativa nesse caso (BRITO, 2012).

c) Glutathione peroxidase (GPx)

A glutathione peroxidase GPx catalisa reações de doação de elétrons (como por exemplo, redução do peróxido de hidrogênio e outros peróxidos orgânicos) tendo como agente redutor a glutathione reduzida (GSH), e tem como produto a glutathione oxidada (GSSG) (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICIOLO, 2007).

A glutathione (GSH) é um tripeptídeo (glutamil-cisteinil-glicina), o qual tem como principal função a defesa contra uma lesão causada pelos radicais oxidantes. Sua ação está atrelada a da glutathione peroxidase (GPx), sendo co-substrato

doando elétrons, podendo ser recuperada pela enzima glutathiona redutase (GR), com a transferência de hidrogênio do NADPH (CONTINGUIBA et al., 2013).

d) Melatonina

Podemos citar a melatonina como um antioxidante, não pró-oxidativo, não enzimático e terminal, portanto ela é eficiente em evitar as ERO, visto que é eficiente em detoxificar os radicais livres em níveis fisiológicos. A capacidade antioxidante da melatonina pode ser atribuída a vários fatores, como por exemplo: a um estímulo direto às enzimas antioxidantes; a uma ação quelante sobre os radicais livres; e a uma maior ativação da glutadiona, cuja função é metabolizar o peróxido de hidrogênio, diminuindo os problemas relacionados ao transporte de elétrons mitocondrial (SOUZA; MORAIS, 2016).

e) Ubiquinona

Também conhecida como Coenzima Q₁₀, a ubiquinona pode ser obtida por fonte externa, ou também através da via do mevalonato, sendo o único lipídio sintetizado por essa via que possui atividade antioxidante, já que essa via também é responsável pela produção de colesterol (OLIVEIRA, 2012).

Esse antioxidante desempenha um papel fundamental na cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, já que participa do transporte de elétrons durante a fosforilação oxidativa (SCHAARS; STALENHOEF, 2008). Além disso, ela participa da regulação da permeabilidade, previne a oxidação do DNA e reduz a oxidação de proteínas de membrana. O ubiquinol CoQH₂, que é sua forma reduzida e que possui a atividade antioxidante, impossibilita a peroxidação lipídica, impedindo a formação de ROO• (radical peroxila). A coenzima Q₁₀ também regenera vitamina E (TURUNEN et al., 2004).

f) Ácido úrico

O ácido úrico (UrH₃) é originário do metabolismo das purinas e é a principal maneira de excreção do nitrogênio dos mamíferos. Por possuir uma alta polaridade, sua ação é restrita ao meio aquoso. Observa-se que pessoas que possuem aterosclerose apresentam níveis elevados de ácido úrico no sangue, portanto podemos concluir que isso é um mecanismo compensatório ao estresse oxidativo

presente. Ele é capaz de proteger o DNA e os lipídios. Em pH fisiológico o ácido úrico fica na forma de urato (UrH_2^-) (BARREIROS et al., 2006).

O urato pode reagir com qualquer radical $\text{ROO}\cdot$ e prevenir que eles penetrem na membrana celular e causem danos, além de possuir a capacidade de quelar metais de transição. Se pegarmos como exemplo um oxidante forte, como o $\cdot\text{OH}$, vemos que ele pode oxidar o ânion urato (UrH_2^-) ao radical urato, que se dissocia, formando o ânion radical urato ($\text{UrH}\cdot$), o qual é mais estável, já que possui uma ressonância e isso possibilita a dispersão da carga negativa (VASCONCELOS et al., 2007).

Além de todos esses mecanismos antioxidantes o organismo também conta com uma gama de mecanismos de reparo, principalmente para lesões oxidativas ocorridas no DNA, lesões às quais podem ser identificadas, removidas e reparadas. Ou ainda, substâncias que foram atacadas por algum radical podem ser restauradas pela doação de hidrogênio de outras moléculas (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICIOLO, 2007).

2.2.3 Antioxidantes exógenos naturais

O consumo habitual de frutas é demonstrado em estudos epidemiológicos como uma forma de reduzir os riscos relacionados com doenças crônicas. A presença de vitaminas, minerais e outros compostos antioxidantes são os prováveis motivos para esse efeito (MOO-HUCHIN et al., 2014).

Podemos citar como exemplos principais de antioxidantes que podem ser obtidos por via exógena: os tocoferóis, os carotenoides, a vitamina C (na forma de ascorbato) e os metabólitos fenólicos de origem natural (VASCONCELOS et al., 2007).

Além das substâncias citadas, devemos levar em conta também vários cofatores importantes para o funcionamento do organismo. Muitas vezes a atividade das enzimas estudadas depende da presença de cofatores enzimáticos, principalmente de antioxidantes de origem alimentar, como, por exemplo, os íons metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} , e do Mn^{2+} , co-fatores da SOD citosólica e da SOD mitocondrial, respectivamente, e também do selênio que é um co-fator na GPx dependente de selênio (BARBOSA et al., 2010).

a) Tocoferóis

A vitamina E, maneira como é denominada o conjunto dos tocoferóis e tocotrienóis, possui como componente mais importante o α -tocoferol. Sendo o antioxidante lipossolúvel fundamental, ele atua inibindo a peroxidação lipídica dos ácidos graxos polinsaturados das membranas e lipoproteínas, ao doar um átomo de hidrogênio aos radicais livres (BRITO, 2012).

O efeito benéfico da vitamina E está principalmente atrelado a uma melhora na resposta imune, pois atua reduzindo a ação pró-oxidante nas membranas, que leva a uma imunossupressão. Observa-se também, que o teor de vitamina E nos macrófagos é reduzido quando eles estão submetidos a um estresse oxidativo. A vitamina A também é crucial para defesa imune, já que aumenta a ação dos leucócitos e a resistência a agentes cancerígenos (DALVI et al., 2013).

b) Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, conhecido como Vitamina C, se encontra no organismo na forma de ascorbato, e nessa forma atua como antioxidante. No ser humano ele não pode ser sintetizado a partir da glicose como em outros organismos, e deve, portanto, ser consumido na dieta. Pode atuar com eficiência no ânion-radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), no peróxido de hidrogênio (H_2O_2), no hipoclorito (ClO^-) e os radicais hidroxila ($\bullet OH$) e peroxila ($\bullet OOH$). O ascorbato pode agir diretamente, como foi citado, mas também indiretamente, regenerando o α -tocoferol (vitamina E), assim como o ânion radical urato a partir de urato, fechando o ciclo de atuação antioxidante do mesmo (VASCONCELOS et al., 2007).

c) Carotenoides

Dentre os carotenóides, o principal composto é o β -caroteno, que é uma importante fonte de vitamina A. Eles atuam de maneira excepcional, visto que podem agir em tecidos com baixos níveis de oxigênio de maneira bastante eficiente. Pode-se citar a desativação do oxigênio singlete como a sua principal função, possuindo uma velocidade de reação superior à dos tocoferóis (DELMONDES et al., 2013).

d) Compostos fenólicos

Os vegetais apresentam dois tipos de metabolismo: primário e especial. O metabolismo primário está ligado diretamente à sobrevivência da planta, englobando assim a fotossíntese, fixação de nutrientes e a respiração. Já o metabolismo especial pode estar relacionado com sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento e/ou defesa da planta, e ele também pode estar estritamente ligado à sobrevivência. Dentre os metabólitos especiais estão os metabólitos fenólicos, que podem ser produzidos em maior quantidade quando o vegetal se encontra em condição de estresse como infecções, fermento ou incidência de radiação ultravioleta, por exemplo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SOUZA, 2013).

Os metabólitos fenólicos representam um dos maiores grupos de substâncias bioativas nas plantas, sendo divididos em algumas classes de acordo com a sua estrutura (ALVES et al., 2014). Podem ser denominados de flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides. Várias são as características que garantem o potencial antioxidante dos flavonoides, dentre eles os átomos de hidrogênio dos grupos hidroxila adjacentes (orto-difenóis), presentes em várias posições dos anéis A, B e C, as duplas ligações dos anéis benzênicos e a dupla ligação da função oxo ($-C=O$) de algumas moléculas de flavonoides (SILVA et al., 2010).

Uma vez que muitas ações benéficas no organismo estão associadas à capacidade antioxidante das substâncias fenólicas, principalmente ácidos fenólicos, flavonoides e taninos, podemos também relacionar esses compostos com uma atividade anticancerígena, antimicrobiana, antialérgica, hepatoprotetora, antitrombótica, antiviral, vasodilatadora, antimutagênica e atividade anti-inflamatória. (OLIVEIRA, 2016).

2.3 MÉTODOS PARA VERIFICAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Hoje existem vários métodos para a análise da atividade antioxidante em compostos naturais e eles envolvem desde utilização de substratos cromógenos e lipídicos, até métodos instrumentais complexos mais diversificados (ALVES et al., 2010).

A ação dos antioxidantes *in vivo* é de grande complexidade e, para sua verificação *in vitro*, foram desenvolvidas diferentes metodologias que estimam de

forma simples a eficiência antioxidante das substâncias. As técnicas geralmente têm como objetivo avaliar: o potencial de redução ou quelação de íons metálicos, a capacidade do antioxidante de neutralizar radicais livres e/ou espécies reativas e a capacidade da substância de impedir a oxidação lipídica e protéica (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

O método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) mede a capacidade do antioxidante de neutralizar os radicais peroxila ($\text{ROO}\cdot$) que são gerados por uma fonte radicalar. O ensaio utiliza um marcador de fluorescência como alvo dos radicais. A queda da fluorescência indica uma maior ação da substância contra os radicais livres (GÜLÇİN, 2012).

Já o método TRAP (*Total Radical – Trapping Antioxidant Parameter*) se destaca por ter sido o primeiro ensaio criado para verificar a atividade antioxidante no plasma sanguíneo. Nesse teste são gerados radicais peroxila ($\text{RO}_2\cdot$), e a partir daí a oxidação é monitorada, por exemplo, por medidas de oxigênio consumido durante a reação, em eletrodo de oxigênio. O período no qual a oxidação é inibida pelos antioxidantes plasmáticos é comparado ao do trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) (VASCONCELOS et al., 2007).

Os métodos FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*) têm como objetivo avaliar a capacidade da substância de reduzir íons férricos ou cúpricos em meio aquoso. As medidas são feitas por espectrofotômetro a 593 nm e 454 nm, respectivamente (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

O método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico tem como objetivo avaliar a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. Os radicais livres gerados na auto-oxidação do ácido linoléico interagem com o β -caroteno levando ao decaimento de sua absorvância. Substâncias antioxidantes impedirão ou retardarão este decaimento (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Essa reação pode ser monitorada em espectrofotômetro pela perda da coloração do β -caroteno no comprimento de onda de 470 nm, com leitura imediata e em intervalos de 15 minutos, por 2 horas. O resultado pode ser comparado com padrões sintéticos como o Trolox, ou naturais, como ácido gálico ou quercetina (ALVES et al., 2010).

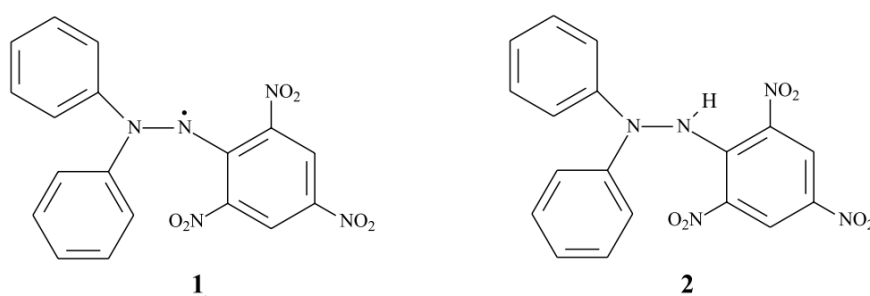
Os métodos baseados na neutralização de radicais livres mais utilizados são o ABTS^{•+} (2,2-azinobis-[3-etil benzotiazolina-6-ácido sulfônico]) e o

DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), sendo o DPPH• mais estável que o ABTS^{•+} (KUSKOSKI et al., 2005). Porém, essas substâncias radicalares são criticadas por alguns autores por serem sintéticas, e não estarem presentes em sistemas biológicos como os radicais hidroxila (HO•) e peroxila (ROO•) que são intermediários presentes nos processos oxidativos do organismo humano (BECKER et al., 2004).

O DPPH• pode ser obtido diretamente sem preparação prévia. Ele é um radical livre estável, pois há um deslocamento do elétron desemparelhado por toda a molécula, e esse deslocamento confere a este radical uma coloração violeta que leva a formação de uma banda de absorção em etanol em cerca de 516 nm (COTINGUIBA et al., 2013; KUSKOSKI et al., 2005).

Esse método tem como princípio a verificação da capacidade do possível antioxidante estudado de reduzir o radical DPPH, representado na Figura 5, reduzindo-o a hidrazina. A redução da absorvância obtida no comprimento de onda de 516 nm mostra que a substância adicionada agiu como doadora de átomos de hidrogênio para o radical, e que levou a uma consequente mudança de coloração de violeta para amarelo pálido (ALVES et al., 2010).

Figura 5 - Forma radicalar (1) e não-radicalar (2) do 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).



Fonte: ALVES et al., 2010.

Entre os métodos simples de verificação da atividade antioxidante em produtos naturais, extratos vegetais e substâncias puras, o DPPH é apontado como o mais reprodutível, fácil e preciso (ALVES et al., 2010; COTINGUIBA et al., 2013).

Além dos métodos citados existem outros vários, e essa diversidade caracteriza a não existência de um procedimento metodológico universal. Por esse motivo é descrita uma necessidade de avaliar a capacidade antioxidante de um

material por diferentes ensaios que apresentem mecanismos de ação e fundamentos diferentes (OLIVEIRA et al., 2009).

2.4 ENSAIO DE TOXICIDADE

Em altas doses os compostos bioativos geralmente são tóxicos. Sendo assim, a avaliação da letalidade em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido durante a análise de novos extratos (LHULLIER; HORTA; FALKENBERG, 2006).

Os ensaios de toxicidade são realizados para estudar os efeitos nocivos de uma substância química no contexto ecológico, e, geralmente, eles são realizados avaliando o efeito adverso dessas substâncias em organismos teste. Os organismos teste podem ser desde peixes e plantas até invertebrados aquáticos e linhagem de células. O microcrustáceo *Artemia salina* é de fácil manutenção em condições de laboratório e tem sido largamente utilizado em testes de toxicidade (PIMENTEL et al., 2011).

Esse microcrustáceo pertence à ordem Anostraca, e ao filo Arthropoda, é utilizado em testes de toxicidade por formar ovos que ficam dormentes, tornando-se um material biológico que pode ser armazenado durante muito tempo sem perda de viabilidade e sem necessidade de se manterem culturas contínuas de organismo-teste. Além disso, seus ovos são de fácil eclosão e os testes que os utilizam apresentam boa reprodutividade (LIMA et al., 2011).

O teste é realizado adicionando 10 larvas de *Artemia salina* em tubos, e depois é acrescida a cada tubo uma concentração diferente do extrato. Através da linearidade é possível calcular a DL₅₀ (dose letal do extrato para 50% da população). Assim, são consideradas tóxicas somente as substâncias que apresentem valores de DL₅₀ abaixo de 1.000 µg/mL em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

O presente estudo tem como objetivo analisar a composição centesimal da polpa de frutos de pitaiia branca (*Hylocereus undatus*) e vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), avaliar a atividade antioxidante dos extratos metanólicos da polpa de pitaiias branca e vermelha, assim como avaliar a toxicidade dos mesmos.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar o estudo da composição centesimal da polpa de frutos de pitaiia branca e vermelha (*Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*, respectivamente).
- A partir do extrato metanólico da polpa de Frutos de pitaiia branca e vermelha:
 - Avaliar o potencial antioxidante por meio do ensaio de redução do radical 2,2- difenil- 1- picrilidrazila (DPPH).
 - Quantificar o teor de fenólicos totais utilizando o método de Folin-Ciocalteu.
 - Verificar a toxicidade do extrato da polpa desses frutos através do ensaio com o microcrustáceo *Artemia salina*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

As amostras de pitaiá branca e vermelha (*Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*, respectivamente) foram coletadas no horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora nos meses de janeiro e fevereiro, no ano de 2016. Sua polpa foi separada da casca cuidadosamente em um processo manual, mantendo suas sementes, e foi imediatamente congelada a -20°C .

4.2 EQUIPAMENTOS

- Aparelho extrator de Soxhlet: Techal
- Balança analítica: Precisa 205A
- Chapa elétrica de aquecimento
- Destilador de nitrogênio: Solab
- Espectrofotômetro Biospectro
- Espectrofotômetro Multiskan GO 1.00.40
- Estufa 110°C : Nova ética
- Fogão à gás, de duas bocas, de bancada
- Liofilizador: LJJ04 JJcientífica
- Mufla: Forno Jung LTDA
- Rotavapor: Buchi
- Ultrassom: Schuster

4.3 LIOFILIZAÇÃO

As amostras foram congeladas em finas camadas e levadas ao liofilizador, as quais ficaram por aproximadamente 24 horas em vácuo (2.000 mmHg) e em temperatura de aproximadamente -30°C .

Depois desse processo, as amostras foram acondicionadas ao abrigo da luz, e posteriormente maceradas em gral para que fossem reduzidas a partículas menores, para facilitar a extração.

4.4 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal, ou a também chamada análise aproximativa ou composição química de um alimento exprime, de forma básica, à proporção em que aparecem em 100 g da porção comestível do produto, grupos homogêneos de substâncias que o constituem. Determinam, de forma grosseira, o seu valor nutritivo ou seu valor calórico. Essa composição é conhecida por meio de análises químicas de determinação de: umidade ou voláteis a 105°C; cinzas ou resíduo mineral fixo; lipídeos, gorduras ou extrato etéreo; proteínas totais ou substâncias nitrogenadas (N x fator de correção); fibras totais; glicídios ou carboidratos ou fração nifext, quando determinado por diferença (MORETO, et al., 2002).

As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata, nas amostras liofilizadas, segundo métodos descritos pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) e pela *Association of Official Analytical Chemists – AOAC* (2012). As determinações de umidade e cinzas foram realizadas no Laboratório de Águas e Alimentos da Faculdade de Farmácia, e as determinações de proteína e lipídios foram realizadas na faculdade de Nutrição, ambas da Universidade Federal de Juiz de Fora.

4.4.1 Umidade

A determinação do teor de água de um alimento é o ponto de partida para a determinação da composição centesimal. Essa análise é importante por refletir o teor de sólidos e o teor de água total contida em um alimento sem, entretanto, fornecer informações de como essa água está distribuída no alimento.

A umidade foi determinada pela técnica de dessecação a 105°C até peso constante (IAL, 2008), utilizando-se balança analítica, estufa de esterilização (105°C) e dessecador. Essa análise foi realizada com as amostras de pitaia branca e vermelha, liofilizadas e *in natura*. O residual de umidade obtido nas amostras liofilizadas foi levado em consideração para expressar o resultado do teor de macronutrientes e do resíduo mineral fixo (%p/p) em base seca.

Procedimento: As cápsulas de porcelana utilizadas para esse procedimento foram taradas colocando-as em estufa de esterilização a 105°C por 1 hora, esfriadas por 1 hora em dessecador e pesadas em balança analítica. Depois, em cada

cápsula foi colocada uma alíquota da amostra liofilizada para pesagem em balança analítica. Foram colocadas em estufa de esterilização por cerca de 8 horas, esfriadas em dessecador e pesadas novamente até peso constante (variação de peso $\leq 0,0005\text{g}$).

Cálculo do percentual de umidade:

$$\% \text{ UMIDADE (g/100g)} = \frac{\text{amostra (g)} - \text{amostra seca (g)} \times 100}{\text{amostra (g)}}$$

4.4.2 Resíduo mineral fixo - Cinzas

O resíduo mineral fixo (RMF) ou cinza corresponde ao resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica. Quando um alimento é queimado (em um forno mufla) a 550-570°C a matéria orgânica é transformada em CO₂, H₂O e NO₂ (queima) permanecendo os minerais presentes no alimento (resíduo inorgânico chamado de “cinzas” ou “resíduo mineral fixo”) (AOAC, 2012).

Para a determinação do RMF foram utilizados balança analítica, forno mufla, dessecador, espátula, pinça e chapa aquecedora.

Procedimento: Os cadinhos previamente enumerados foram calcinados em mufla 550°C por 4 horas. Após resfriados em dessecador até atingirem temperatura ambiente, foram pesados e a cada um foi adicionado uma alíquota de amostra liofilizada. Então as amostras foram carbonizadas em fogão de bancada. Em seguida os cadinhos foram colocados em mufla aumentando-se a temperatura até 550°C para incineração por 4 horas e meia ou até sobrar um resíduo de cinzas brancas ou claras e uniformes.

A porcentagem de cinzas foi calculada segundo a seguinte fórmula (IAL, 2008):

$$\% \text{ cinzas totais} = \frac{[(\text{massa do cadinho} + \text{amostra após incineração}) - \text{peso do cadinho calcinado}] (\text{g})}{\text{massa da amostra (g)} \times 100}$$

4.4.3 Proteínas totais

O método de determinação de proteínas foi proposto por Kjeldahl em 1883, (AOAC, 2012). Embora tenha sofrido várias modificações, este método continua sendo o mais utilizado na determinação do teor de substâncias nitrogenadas de uma amostra (IAL, 2008). Portanto, esse método determina o nitrogênio (N) orgânico total, isto é, o N proteico e não-proteico orgânico. Porém, na maioria dos alimentos, o N não-proteico representa muito pouco de N total.

Esse método consiste em submeter a amostra à uma digestão na qual os compostos de nitrogênio (proteínas, aminas, compostos orgânicos) são convertidos em compostos de amônia. Então a amônia livre é liberada pela adição de cáusticos, que no processo de destilação são arrastados e, em seguida, titulados (SCHAEFFER, 2009).

As proteínas são determinadas pelo teor de nitrogênio das amostras e depois multiplicadas pelo fator de conversão de nitrogênio em proteína.

Procedimento: As amostras passaram pelas fases de digestão, destilação e titulação. Para digestão da amostra foram medidos aproximadamente 0,5 g de polpa liofilizada da pitáia, 1,6 g da mistura catalítica contendo sulfato de cobre e sulfato de potássio, pérolas de vidro para evitar a projeção da amostra em ebulição e 4 mL de ácido sulfúrico p.a. (Cromato produtos químicos [CRQ]). A mistura foi levada para o aquecimento em chapa elétrica localizada em uma capela de exaustão para que a temperatura subisse gradativamente de 200°C até 350°C. Esse processo demorou algumas horas e só foi ser interrompido quando a solução se tornou azul-esverdeada, límpida e transparente, sem a presença de material não digerido (pontos escuros). Nesse ponto todo o nitrogênio da amostra foi reduzido e transformado em sulfato de amônia. Após esse procedimento o frasco foi deixado para resfriar e em seguida acoplado a um destilador. Na outra extremidade foi colocado um Erlenmeyer com 10 mL de solução de ácido bórico 4,0 % m/v acrescido de corante indicador (vermelho de metila e azul de metila). No aparelho, foram adicionados NaOH 35%, ao frasco com a polpa digerida, para que o ácido sulfúrico fosse totalmente neutralizado, deixando um ligeiro excesso de base. Em seguida a amostra digerida foi aquecida até a ebulição, parando o processo quando já se tinha obtido pelo menos 75 mL do destilado. Por último, a solução de hidróxido de amônio formada foi titulada com ácido clorídrico 0,076 mol/L.

O teor de nitrogênio total foi obtido utilizando-se o fator de correção 6,25 para transformá-lo em teor de proteína.

Para o cálculo seguiu-se a seguinte fórmula:

$$\text{Proteínas \% m/m} = \frac{V \times 0,076 \times 1,4 \times f}{M} \text{ onde,}$$

V = volume de ácido clorídrico gasto na titulação

M = massa da amostra f = fator de conversão (6,25)

4.4.4 Fração lipídica

Os lipídeos são compostos de natureza hidrofóbica, geralmente extraídos por compostos orgânicos como éter etílico, éter de petróleo, clorofórmio e hexano. Além da fração lipídica, são extraídos outros compostos que apresentam afinidade pelo solvente, como pigmentos, resinas, ceras, porém, em quantidades não significativas (IAL, 2008).

O teor de lipídeo das amostras foi determinado gravimetricamente após extração com éter etílico p.a., em extrator contínuo de Soxhlet.

Procedimento: Foi pesado aproximadamente 0,5 g da amostra liofilizada em papel de filtro, que foi colocado no aparelho de Soxhlet. O éter etílico (Cromato produtos químicos (CRQ)) utilizado na extração foi adicionado a balões de vidro previamente tarados, acoplados ao aparelho. Após extração contínua por cerca de 8 horas o extrato etéreo presente no balão de vidro foi pesado (IAL, 2008). O cálculo foi feito da seguinte maneira:

$$\% \text{ lipídios} = \frac{100 \times N}{P} \text{ onde,}$$

N = massa do lipídio em gramas

P = massa da amostra em gramas

4.4.5 Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das médias das porcentagens de umidade, cinzas, fração lipídica e proteínas totais.

Cálculo do percentual de carboidratos:

% Carboidratos (g/100g) = 100 - (umidade + cinzas + fração lipídica + proteínas totais). Os valores de carboidratos incluem a fibra alimentar total.

4.5 OBTENÇÃO DO EXTRATO

O solvente foi escolhido para a extração após um estudo sistemático de várias pesquisas realizadas com a pitiaia. Foram observados os resultados encontrados após a extração, por diversos autores (FATHORDOOBADY et al., 2016; GARCÍA-CRUZ et al., 2013; KIM et al., 2011; MAHATTANATAWEE et al., 2006; TENORE; NOVELLINO; BASILE, 2012). Assim, foi utilizada como solvente para a obtenção do extrato uma mistura metanol/água na proporção 80:20.

Foram adicionados, em Erlenmeyer, aproximadamente, 30 g de pitiaia branca liofilizada (30,002 g) previamente triturada em gral e em seguida foram adicionados 200 mL de uma mistura de metanol/água 80:20 (Dinâmica/Química contemporânea LTDA). O Erlenmeyer foi levado ao banho de agitação em ultrassom por 40 minutos e posteriormente foi deixado em torno de 24 horas em repouso.

O produto foi filtrado, em papel de filtro, e o extrato metanólico obtido foi armazenado em frasco âmbar para futura rotaevaporação. O processo de extração exaustiva da torta foi repetido 14 vezes, até que a amostra estivesse esgotada.

Todos os passos foram feitos simultaneamente para a pitiaia vermelha liofilizada (30,005 g).

A rotaevaporação foi efetuada por etapas e, após a retirada de todo o metanol, restando menos de 50 mL de solução no balão, o líquido restante foi congelado e levado no liofilizador para obtenção do extrato seco.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE REDUÇÃO DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRILIDRAZILA (DPPH)

A verificação, *in vitro*, da atividade antioxidante pelo método espectrofotométrico de redução do radical livre estável DPPH• (2,2-difenil-1-picrilidrazila) tem como base o teste proposto por BLOIS (1958) com algumas modificações. Esse método tem como princípio a mudança de coloração da solução de DPPH, causada pela redução do radical por doação de elétron.

Foi preparada uma solução de 0,3 mM de DPPH• (Aldrich), PM= 394,32, em etanol p.a. (Alphatec) utilizando um balão de 25 mL protegido da luz. A solução controle da reação (1 mL de DPPH• 0,3 mM + 2,5 mL etanol p.a.) deve ter sua absorvância testada, não podendo apresentar um valor maior do que 0,8 no comprimento de onda de 516 nm. Caso o valor esteja elevado, ajusta-se a concentração da solução de trabalho.

Também foram preparadas em balões volumétricos as soluções dos extratos testados, as quais também foram diluídas em etanol. Foram testadas concentrações variadas, para que fosse possível determinar a linearidade. Todas as concentrações foram realizadas em triplicata. Além disso, considerando que no meio reacional ocorre uma diluição de 1,4 vezes, as soluções de partida foram preparadas 1,4 vezes mais concentradas.

O ensaio foi feito na penumbra utilizando tubos de vidro com boca rosqueada e tampa, protegidos por papel alumínio. Para cada tubo teste em cada concentração testada, foram adicionados 2,5 mL de amostra e 1 mL de solução DPPH de trabalho. Os brancos das amostras foram realizados somando 1 mL de etanol à cada um dos tubos com 2,5 mL de cada uma das concentrações testadas em triplicata. A solução controle foi preparada com 2,5 mL de etanol e 1 mL de solução de trabalho de DPPH.

As amostras foram incubadas por 30 minutos após a adição do DPPH. Na sequência foram feitas as leituras das absorvâncias no comprimento de onda de 516nm. O cálculo da porcentagem de atividade antioxidante (%AAO) foi realizado da seguinte maneira:

$$\% \text{ AAO} = 100 - [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / A_{\text{controle}}] \times 100$$

Na qual, $A_{amostra}$ é a medida espectrofotométrica da absorvância de 2,5 mL da amostra acrescida de 1 mL da solução de DPPH•, $A_{controle}$ é a medida da absorção de 2,5 mL de etanol com 1 mL de DPPH•(controle de reação) e A_{branco} é a leitura correspondente a 2,5 mL de solução da amostra mais 1 mL de etanol.

Os resultados foram expressos através do valor da concentração efetiva 50% (CE_{50}).

4.7 TEOR DE METABÓLITOS FENÓLICOS TOTAIS

Os métodos para análise de compostos fenólicos podem ser espectrofotométricos, eletroquímicos ou cromatográficos. Porém, hoje ainda não há um método único completamente satisfatório para a extração de todos ou de uma classe específica de fenólicos presentes nos alimentos. As análises em compostos fenólicos podem ser divididas em: determinação de compostos fenólicos totais, quantificação individual e/ou de um grupo ou classe de compostos fenólicos. Os métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu são os mais utilizados para a determinação de fenólicos totais em vegetais (ANGELO; JORGE, 2007).

A quantificação de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu tem como base a redução do ácido fosfomolibdico-fosfotungstico pelos grupos hidroxila dos compostos fenólicos, que produz um complexo de coloração azul, o qual absorve a 760nm. A intensidade da cor formada está diretamente correlacionada com o número de grupos hidroxila ou grupos potencialmente oxidáveis presentes, sendo que as moléculas reduzidas dão a solução uma coloração azul, e as não reduzidas produzem a cor amarela. Para que os ânions molibdano e tungsofosfato produzam a oxidação é necessário que o grupo fenólico esteja na forma de fenolato. Para que isso seja possível, o meio deve ser alcalino e, para esse fim, o carbonato de sódio (Na_2CO_3 10%) é adicionado. Apesar de ser largamente utilizado, esse método não é específico, já que detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo proteínas extraíveis. Além disso, a interferência pela redução de substâncias como o ácido ascórbico pode ser considerada uma desvantagem (ANGELO; JORGE, 2007).

A determinação do teor de metabólitos fenólicos foi realizada pelo ensaio espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, em microplaca, descrito por Wettasinghe e

Shahidi (1999) e Zielinski e Kozłowska (2000), com pequenas modificações. Foi utilizado o ácido gálico como substância química de referência.

Para análise do teor de fenólicos foram preparadas, em triplicata, a partir do extrato metanólico da polpa da pitáia branca, soluções diluídas em metanol com as concentrações de 30 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 340 µg/mL, 500 µg/mL e 600 µg/mL. Já para a pitáia vermelha as concentrações foram 675 µg/mL, 750 µg/mL, 900 µg/mL e 1000 µg/mL. Para a reação na microplaca, foram adicionados, nos poços destinados as amostras, 100 µL de água deionizada, 50 µL de amostra, 50 µL do reagente de Folin-Ciocalteu agitando suavemente por 5 minutos e, por último foram adicionados 100 µL de Na₂CO₃ 10%. Foram feitos também brancos para todas as concentrações, os quais eram constituídos somente por 250 µL de água deionizada e 50 µL de amostra. Para controle dos reagentes foram realizadas também medidas para soluções compostas de 50 µL de reagente de Folin, 50 µL de metanol e 100 µL de Na₂CO₃ 10%. Então as placas foram agitadas vigorosamente por 10 minutos e deixadas em repouso no escuro por 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro para microplacas no comprimento de onda de 760 nm e os resultados foram expressos em termos de miligramas de ácido gálico equivalente por grama de extrato em base seca (mg de EAG/g de extrato).

Para achar o valor de absorvância real utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{Abs Amostra } (\Delta) = \text{Abs A} - \text{Abs B} - \text{Abs C}$$

Na qual, Abs A é a medida espectrofotométrica da absorvância gerada pela amostra na presença do reagente de Folin-Ciocalteu, Abs B é a medida da absorção da amostra na ausência do reagente Folin-Ciocalteu e Abs C é a leitura correspondente à absorvância do controle de reagentes sem presença da amostra.

Para que os resultados fossem expressos em termos de miligramas de ácido gálico equivalente, foi construída uma curva analítica de um padrão de ácido gálico (Riedel de Haën) pelo método de Folin-Ciocalteu. Com esse objetivo, foram feitas curvas analíticas em triplicatas, durante três dias diferentes, as quais foram submetidas à análise de covariância, e comprovou-se a ausência de diferença estatística entre elas. Posteriormente os dados foram reunidos, obtendo-se a curva analítica resultante. A equação da regressão linear foi calculada, bem como o valor

de correlação (R^2). Para esta análise estatística utilizou-se o programa *GraphPad Prism*, versão 5.01 (2007) da *GraphPad Software*. O procedimento analítico utilizado foi o mesmo realizado para as amostras de pitaia, porém com as concentrações de 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$, 3 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, e 6 $\mu\text{g/mL}$ de ácido gálico.

4.8 ENSAIO DE TOXICIDADE

O método utilizado para verificação da ecotoxicidade em *Artemia salina* é o de Litchfield e Wilcoxon, 1949, modificado por Meyer e colaboradores, 1982.

A água do mar, que é preparada artificialmente, é utilizada para eclodir os ovos e para as diluições do extrato testado. Uma alíquota de ovos é colocada em um béquer com 50 mL de água do mar e levada a estufa a 37°C, por 48 horas. Já as soluções preparadas com o extrato possuem concentrações crescentes de 10 até 1.000 $\mu\text{g/mL}$. O controle positivo é feito com timol por sua conhecida característica tóxica frente aos micro crustáceos testados. O controle negativo possuía somente água do mar.

São colocadas 10 larvas de *Artemia salina* em cada tudo preparado. Ao término da inoculação, os tubos são armazenados sob iluminação artificial constante, por um período de 24 horas. Após esse período, são contadas as larvas mortas para cada diluição. A DL_{50} é determinada pela regressão linear entre as concentrações e a porcentagem de morte (LITCHFIELD; WILCOXON, 1949). Assim, são consideradas tóxicas somente as substâncias que apresentem valores de DL_{50} abaixo de 1.000 $\mu\text{g/mL}$ em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Após a rotaevaporação completa do solvente e liofilização, os extratos metanólicos dos frutos de pitáia branca (*Hylocereus undatus*) e vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), renderam, respectivamente, 48,12% e 70,01%. Após a liofilização os extratos se apresentaram caramelizados, o que pode ser atribuído à grande concentração de açúcares do fruto.

5.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A investigação da composição nutricional e das atividades biológicas de um vegetal é necessária para evidenciar cientificamente as aplicações terapêuticas e nutricionais, visto que somente o uso tradicional não é suficiente para validar uma planta como um produto eficaz para seus fins (RODRIGUES, 2013). Sabendo disso, nesse trabalho foi analisado a composição centesimal das polpas com semente de frutos de pitáia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*), na expectativa de exprimir de forma básica o seu valor nutritivo e a proporção de componentes em que aparecem, em 100g do fruto, para colaborar com o esclarecimento dos seus efeitos benéficos.

A partir da determinação do teor de umidade da polpa *in natura* dos frutos de pitáia, vermelha e branca, foi possível observar a predominância desse constituinte. Os valores encontrados foram de $85,58 \pm 0,15$ g/100g para a pitáia vermelha e $87,83 \pm 0,13$ g/100g para a pitáia branca.

Após a secagem das amostras, por liofilização, observou-se a predominância do macronutriente carboidrato ($85,70 \pm 1,12$ g/100g para a pitáia vermelha e $85,26 \pm 0,62$ g/100g para a pitáia branca). Os resultados da análise das polpas liofilizadas de pitáia vermelha e branca, expressos em base seca, quanto aos teores de macronutrientes e de resíduo mineral fixo estão representados na Tabela 1.

Por meio da análise da composição centesimal da polpa de frutos de pitáia, observa-se que a pitáia branca se apresenta com valores muito próximos aos da pitáia vermelha, para todos os parâmetros.

Tabela 1 – Teores de macronutrientes e de resíduo mineral fixo da polpa liofilizada de pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*) do horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, 2016.

	Pitaia vermelha (g/100g) ¹	Pitaia branca (g/100g) ¹
Carboidratos²	85,70 ± 1,12	85,26 ± 0,62
Proteínas	7,33 ± 0,85	8,18 ± 0,17
Lipídios	2,19 ± 0,10	2,45 ± 0,15
Cinzas	4,77 ± 0,05	4,11 ± 0,09

¹ Valores representam a média e o desvio padrão de análise realizada em triplicata e são expressos em base seca (% p/p).

² Valores obtidos por diferença (inclui a fração fibra alimentar).

Fonte: A autora.

Abreu e colaboradores (2012) avaliando a composição centesimal da polpa das pitaias vermelha e branca provenientes do estado de São Paulo encontraram valores expressos em g/100g de polpa, convertidos, pela autora desse trabalho, em base seca, de: 2,49 e 2,80 para cinzas; 7,32 e 6,25 para proteínas; 2,49 e 3,38 para lipídios e 87,15 e 87,57 para carboidratos, respectivamente.

García-Cruz e colaboradores (2013) analisando a composição centesimal de duas variantes de pitaia, uma com a polpa vermelha e outra com a polpa laranja, da espécie *Stenocereus pruinosus*, encontraram os seguintes valores, expressos em g/100g em base seca: 4,88 e 5,54 para cinzas; 10,08 e 10,91 para proteínas; 0,90 e 0,90 para lipídios e 84,26 e 82,09 para carboidratos, respectivamente.

Os trabalhos citados anteriormente e as revisões de literatura realizadas por Nunes e colaboradores (2014) e Mizrahi (2014) corroboraram os dados encontrados nesse estudo, no que diz respeito à proporção dos macronutrientes em pitaias de diferentes espécies e procedências. Na composição química da pitaia o principal componente é a água, seguida dos carboidratos e depois das proteínas ou substâncias nitrogenadas. Os lipídios são os componentes macronutrientes que aparecem em menor quantidade.

Sabendo que o teor cinzas reflete a quantidade de minerais presentes em um alimento (STORCK; NUNES; OLIVEIRA, 2013), verificamos que a polpa de pitaia vermelha apresentou quantidade de minerais um pouco maior do que a polpa da pitaia branca. Porém, Abreu e colaboradores (2012) chegaram a um resultado contrário a esse, e também com valores mais baixos para as duas pitaias, quando

expressos em base seca (2,49 g/100 g para a pitaiia vermelha e 2,80 g/100 g para a pitaiia branca). Pode-se inferir que a diferença do valor de cinzas pode ser atribuída à diferença quantitativa de minerais presentes nos solos dos diferentes locais dos quais as pitaiias foram colhidas.

Ao comparar a proporção de macronutrientes da polpa de pitaiia à de outras polpas de frutas, convencionais, principalmente frutas tropicais como acerola, laranja e mamão (NEPA, 2004), pode-se concluir que as duas espécies de pitaiia apresentam um conteúdo semelhante às mesmas.

Por sua vez se torna interessante comparar os resultados do presente trabalho com o realizado com outra fruta considerada não convencional ou exótica, presente esporadicamente na dieta de alguns brasileiros como a lichia (*Litchi chinensis*). Com relação aos teores de proteínas os valores encontrados são próximos, 7,33% para a pitaiia vermelha, 8,18% para a pitaiia branca e 6,85 % para a lichia. Já em relação aos teores de lipídios os valores encontrados para as pitaiias analisadas foram menores do que os encontrados para a lichia (2,19% para a pitaiia vermelha, 2,45% para a pitaiia branca e 5,56% para a lichia) (MOTTA, 2009). A diferença de valor lipídico entre a pitaiia e a lichia poderia ser explicada pela maior proporção de água encontrada na polpa da pitaiia, sendo necessários maiores estudos para verificação.

Ao observar o resultado de cinza encontrado para a lichia (2,72%) vemos que ele é bem menor do que o encontrado para a pitaiia vermelha (4,77%) e para a pitaiia branca (4,11%). Pode-se supor que a não retirada das sementes interferiu diretamente nesse parâmetro, aumentando os valores para ambas as pitaiias. Estudos desses parâmetros com a polpa pura, sem sementes, poderiam tornar clara a existência ou não de interferência.

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE REDUÇÃO DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRILIDEAZILA (DPPH)

Esse método baseia-se na transferência de elétrons. Quando o DPPH• é reduzido, ocorre a perda de cor da solução violeta composta por radicais estáveis DPPH•, tornando-se amarelada. O método é simples, rápido e conveniente, sendo

útil para a triagem de muitas amostras no intuito de avaliar a atividade neutralizante de radical livre (JUSTUS, 2014).

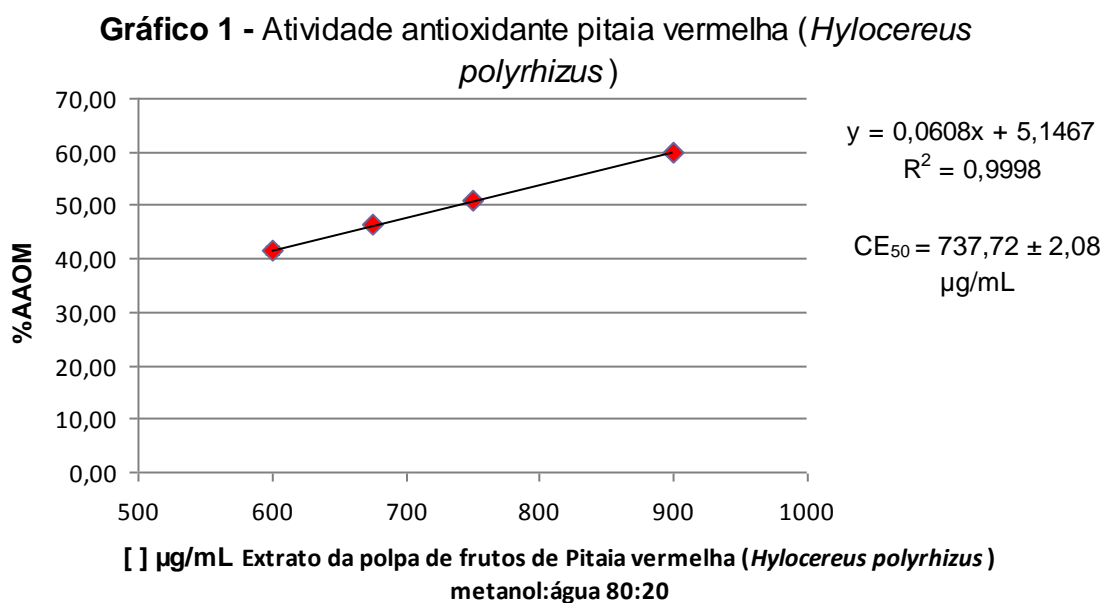
Os resultados apresentados foram expressos através do valor de concentração efetiva (CE_{50}), que representa a concentração de amostra necessária para neutralizar 50% dos radicais de DPPH. Portanto, quanto menor a CE_{50} , maior será a atividade antioxidante da amostra.

Para os testes foram utilizados os extratos (metanol/água 80:20) liofilizados, das polpas de pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*).

Após testar várias concentrações das amostras, foram construídos gráficos que mostram as concentrações testadas e suas respectivas atividades antioxidantes médias (%AAOM). Os valores de desvio padrão relativo entre as médias de atividade antioxidante foram todos abaixo de 1,4%, para todas as concentrações.

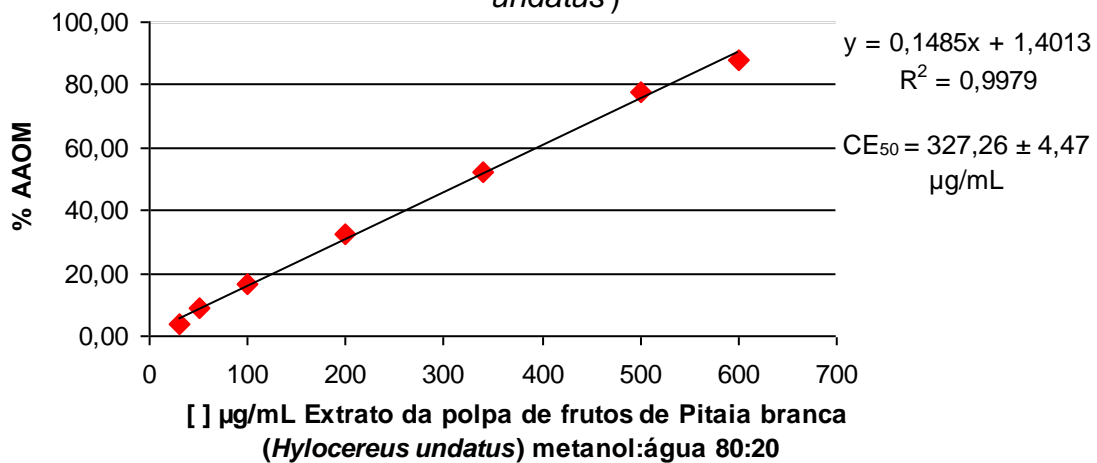
Através das equações geradas a partir dos gráficos de regressão linear para a pitaia vermelha (Gráfico 1) e pitaia branca (Gráfico 2) foi possível calcular a CE_{50} (concentração efetiva para 50%) das duas amostras que foi de $737,72 \pm 2,08 \mu\text{g/mL}$ para a pitaia vermelha e de $327,26 \pm 4,47 \mu\text{g/mL}$ para a pitaia branca.

A presença da atividade antioxidante da pitaia pode ser relacionada com seus constituintes, como por exemplo, a betalaína, que é reconhecida por sua atividade antioxidante, além dos metabólitos fenólicos, ácido ascórbico, entre outros.



Fonte: A autora.

Gráfico 2 - Atividade antioxidante pitaia branca (*Hylocereus undatus*)



Fonte: A autora.

Observa-se que o valor de atividade antioxidante pelo método de redução do DPPH encontrado para a pitaia branca (*Hylocereus undatus*) é menor que a metade do valor encontrado para a pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*), o que significa dizer que a amostra branca apresenta mais do que o dobro de atividade antioxidante do que a amostra vermelha.

A diferença entre os resultados das duas espécies mostra que provavelmente também houve uma diferença entre as substâncias extraídas para as duas espécies, já que, a espécie vermelha, mesmo possuindo um maior rendimento na extração (70,01%), não mostrou maior atividade antioxidante do que a espécie branca (com rendimento de 48,12% na extração).

Sabe-se que os compostos responsáveis pela atividade antioxidante dos vegetais, geralmente são provenientes do metabolismo secundário, que é responsável pelas relações ecológicas, adaptação e pelos mecanismos de defesa da planta, e que esses metabólitos podem ser mais produzidos em condições de estresse (SOUZA, 2013). Portanto, esse resultado poderia ser justificado pela época em que os frutos foram colhidos. Os frutos da pitaia vermelha ficaram maduros e foram colhidos antes, no início do verão, e receberam menor incidência de radiação ultravioleta e intempéries do verão. Já os frutos de pitaia branca só estiveram bons para a colheita mais de um mês depois, resultando em uma maior exposição aos raios ultravioleta e intempéries do alto verão, podendo ser levado a uma maior

produção de metabólitos secundários, e conseqüentemente a uma maior atividade antioxidante frente ao DPPH.

Além disso, por terem sido colhidos antes, os frutos de pitaita vermelha ficaram mais tempo armazenados do que os frutos de pitaita branca. Esse pode ser um fator que pode levar a essa diferença de resultado na atividade antioxidante.

Luo e colaboradores (2014) encontraram valores de CE_{50} de 830 $\mu\text{g/mL}$ para *H. polyrhizus* (pitaita vermelha) e 910 $\mu\text{g/mL}$ para *H. undatus* (pitaita branca), sendo que o resultado para a pitaita vermelha se mostra próximo ao encontrado nesse estudo, porém em seu trabalho, mostram menor atividade antioxidante do que a concluída nesse estudo para a pitaita branca.

O *Ginkgo biloba* é uma das plantas que apresenta elevada atividade antioxidante por esse método, apresentando o valor de $40,6 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$ nos resultados encontrados por Justus (2014), para seu extrato padronizado. Em comparação com o *Ginkgo biloba*, os extratos metanol/água 80:20, de ambas as pitaitas analisadas, não apresentam boa atividade antioxidante, já que seria necessário 8 vezes mais de pitaita branca e 18 vezes mais de pitaita vermelha para atingir o mesmo efeito antioxidante da *Ginkgo biloba*. Mesmo assim, observa-se, pela boa linearidade obtida, que as duas espécies de pitaita apresentam atividade antioxidante e esta poderia ser correlacionada com sua concentração.

Deve-se levar em conta que os métodos como o DPPH•, que se baseia em radicais livres estáveis, são criticados por serem radicais sintéticos, que não estão presentes em sistemas biológicos. Esse dado nos faz frisar a necessidade de utilização de outros métodos que avaliem a atividade antioxidante frente a outros tipos de radicais (BECKER et al., 2004).

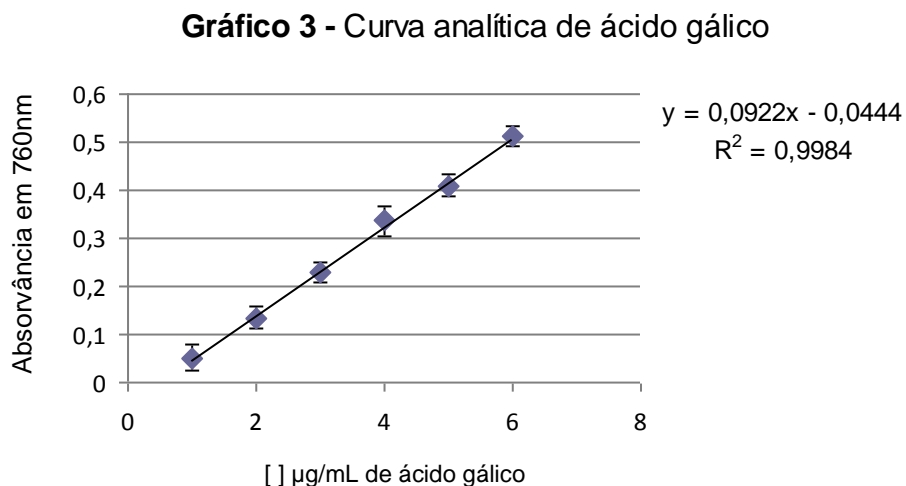
Abreu e colaboradores (2012) mostram que a atividade antioxidante da polpa de frutos de pitaita se mostra mais baixa quando utilizado o método DPPH, mas os resultados obtidos pelo método do sistema betacaroteno/ácido linoléico são bem mais significativos, já que esse método possui um princípio diferente, que é a peroxidação lipídica. O método de oxidação do β -caroteno/ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoléico. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração do betacaroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoléico (ALVES et al., 2010).

Frisa-se então a necessidade da utilização de mais de um método para que seja possível avaliar a atividade antioxidante por ensaios que apresentem mecanismos de ação e fundamentos diferentes (OLIVEIRA et al., 2009).

5.4 TEOR DE METABÓLITOS FENÓLICOS TOTAIS

Diversas técnicas podem ser utilizadas na determinação espectrofotométrica de metabólitos fenólicos, sendo a de Folin-Ciocalteu uma das mais utilizadas. O reagente de Folin-Ciocalteu contém uma mistura de coloração amarela dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, que em presença de substâncias redutoras, como os compostos fenólicos, se torna azul. A mudança de coloração permite a determinação da concentração dessas substâncias. O ajuste do pH ideal é feito com uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) (OLIVEIRA, 2016).

Para a expressão dos resultados em termos de miligramas equivalentes de ácido gálico, foi construída uma curva analítica do ácido gálico, a qual está demonstrada no Gráfico 3, abaixo:



Fonte: A autora.

A equação da reta utilizada foi de $y = 0,0922x - 0,0444$, onde os valores das médias das absorvâncias foram adicionados em y para a obtenção da concentração em equivalente de ácido gálico pelo valores de x .

O teor de metabólitos fenólicos totais encontrado para a pitiaia branca foi de $678,80 \pm 64,13$ mgEAG/100g e de $503,41 \pm 52,06$ mgEAG/100g para a pitiaia vermelha.

Kim e colaboradores (2011) encontraram um valor de fenóis para a pitiaia vermelha de 491 ± 55 mgEAG/100g e para pitiaia branca de 352 ± 60 mgEAG/100g. Observa-se que os valores foram semelhantes aos do presente estudo para a pitiaia vermelha, sendo menores somente para a pitiaia branca.

Já para frutos do gênero *Stenocereus*, que também é chamado popularmente de pitiaia, foram encontrados valores de $1.384,3 \pm 10,4$ mgEAG/100g e $2.395,3 \pm 42,6$ mgEAG/100g para as pitaias vermelha e branca, respectivamente. Esses valores foram bem mais altos do que os encontrados para as pitaias do gênero *Hylocereus* nesse estudo (BELTRÁN-OROZCO et al., 2009).

Os diferentes resultados encontrados nos estudos sobre a pitiaia para o teor de fenólicos totais provavelmente decorreram da utilização de frutos com diferentes graus de maturação e diferentes origens e climas (ABREU et al., 2012).

5.4.1 Correlação do teor de metabólitos fenólicos com a atividade antioxidante pelo método DPPH

Em muitos casos, a quantidade de fenólicos presentes em um produto natural está relacionada com a atividade antioxidante do mesmo (SILVA et al., 2010). Sabendo disso, o teste estatístico de Pearson foi aplicado para verificar a correlação entre a composição de fenólicos da pitiaia com a atividade antioxidante estimada pelo método DPPH.

O coeficiente de Pearson (r) mede o grau de correlação entre variáveis. A fórmula seguinte representa esse coeficiente:

$$r = \frac{1}{n-1} \sum \left(\frac{x_i - \bar{X}}{s_x} \right) \left(\frac{y_i - \bar{Y}}{s_y} \right)$$

O valor de “r” varia de -1 a 1. O sinal do resultado mostra a direção positiva ou negativa do relacionamento entre os conjuntos de dados e o valor sugere a força da relação entre as variáveis. Uma correlação perfeita (-1 ou 1) indica que o valor de uma variável pode ser determinado exatamente ao se saber o valor da outra. No outro oposto, uma correlação de valor zero indica que não há relação entre as variáveis (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JÚNIOR, 2009).

Na prática são encontrados valores intermediários entre 0 e 1. Sendo assim, o coeficiente de correlação pode ser avaliado qualitativamente da seguinte forma: se $0,00 < r < 0,30$, existe fraca correlação; se $0,30 \leq r < 0,60$, existe moderada correlação; se $0,60 \leq r < 0,90$, existe forte correlação; se $0,90 \leq r < 1,00$, existe correlação muito forte (LIRA, 2004).

Na Tabela 2 observa-se os valores utilizados para o cálculo que foi feito no *Software GraphPad Prism*, versão 5.01 de 2007. No teste assumiu-se uma distribuição Gaussiana normal para os dados e um intervalo de confiança de 99%.

Tabela 2 – Avaliação da correlação de Pearson, concentração de metabólitos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante pelo método DPPH nos extratos da polpa das pitaias vermelha e branca do horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, 2016.

PITAIA VERMELHA		PITAIA BRANCA	
Média da concentração de fenóis totais ($\mu\text{g/mL}$ de EAG)	% Atividade antioxidante média	Média da concentração de fenóis totais ($\mu\text{g/mL}$ de EAG)	% Atividade antioxidante média
3,5870	41,53	1,2631	32,23
3,5531	46,30	2,2118	52,48
4,4446	50,84	3,5107	77,64
5,1466	59,82	4,3858	88,14
Coeficiente de Correlação de Pearson = 0,9563		Coeficiente de Correlação de Pearson = 0,9949	

Fonte: A autora.

De acordo com a Tabela 2, a correlação entre as duas variáveis analisadas para os dois tipos de pitaias obtiveram um valor próximo de 1, sendo essa correlação

considerada como muito forte. Sendo o coeficiente positivo, podemos dizer que quanto maior a concentração de fenólicos, maior será a atividade antioxidante. Portanto, isso indica que os compostos fenólicos contribuem de forma significativa para a capacidade antioxidante dos extratos. Os resultados encontrados para a pitiaia corroboram com essa afirmação, já que maiores resultados para os fenólicos da pitiaia branca refletiram em uma maior atividade antioxidante pelo método DPPH para essa espécie, mesmo com menor teor extrativo do que para a espécie vermelha.

5.5 ENSAIO DE TOXICIDADE

A avaliação da letalidade de compostos bioativos frente a organismos menos complexos se faz importante devido à alta toxicidade de alguns deles quando em altas doses. O microcrustáceo *Artemia Salina* é de fácil manutenção em condições de laboratório (PIMENTEL et al., 2011) e foi utilizado com o intuito de calcular a DL₅₀ (dose letal do extrato para 50% da população), que foi de 1.515,98 µg/mL para a pitiaia vermelha e 1.148,14 µg/mL para a pitiaia branca.

São consideradas tóxicas somente as substâncias que apresentam valores de DL₅₀ abaixo de 1.000 µg/mL em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982), portanto, nenhuma das amostras é tóxica, pois apresentam valores maiores do que 1.000 µg/mL. Esse resultado já era esperado, já que o material testado era a polpa de um fruto comestível.

6 CONCLUSÃO

Em relação à composição centesimal pode-se concluir que teor de umidade da amostra *in natura* foi alto, assim como de outras frutas tropicais. Além disso, os outros parâmetros também foram muito semelhantes a várias frutas tropicais como laranja, mamão e acerola. As duas amostras apresentaram uma proporção reduzida de lipídios, pouca proteína e uma quantidade considerável de carboidratos, como havia sido descrito na literatura.

Pela análise espectrofotométrica da atividade antioxidante (DPPH), os extratos apresentaram um valor de EC_{50} relativamente alto, sendo que quanto menor o valor de CE_{50} , maior é a atividade antioxidante. Pela boa linearidade apresentada pode-se concluir que a atividade antioxidante se faz presente, mesmo que baixa. Porém, devido aos baixos valores, observa-se a necessidade de mais estudos e a realização de ensaios que se baseiem em outros métodos.

O teor de compostos fenólicos foi considerado baixo comparando-o com outras frutas, sendo que, pelo alto índice de Pearson obtido, foi possível correlacionar de forma significativa a concentração de compostos fenólicos da pitaita com sua atividade antioxidante.

O ensaio de toxicidade em *Artemia Salina* resultou em valores acima de 1.000 $\mu\text{g/mL}$, ou seja, as amostras não foram consideradas tóxicas.

Conclui-se então que a pitaita tem potencial para ser incorporada à dieta do brasileiro, contribuindo para a diversidade alimentar, para a saúde e também para outros fins como a utilização de seu pigmento para as indústrias alimentícia e cosmética.

REFERÊNCIAS

- ABREU, W. C. et al. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 656-61, 2012.
- ADNAN, L.; OSMAN, A.; HAMID, A. A. Antioxidant activity of different extracts of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed. **Int J Food Prop**, New York, v. 14, p. 1171-1181, 2011.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, C. Z.; GODOY, A. R.; CORREA, L. S. Adequação da metodologia para o teste de germinação de sementes de pitaya vermelha. **Ciên Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 779-784, 2011.
- ALVES, M. J. et al. Phenols, flavonoids and antioxidant and cytotoxic activity of leaves, fruits, peel of fruits and seeds of *Piptadenia moniliformis* Benth (Leguminosae - Mimosoideae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas- Blacpma**, Santiago, v. 13, n. 5, p. 466-476, 2014.
- AMID, M.; MANAP, M.Y. A.; ZOHDI, N. K. Purification and characterization of alkaline-thermostable protease enzyme from pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) waste: A potential low cost of the enzyme. **Biomed Res Int**, New York, v. 2014, p. 1-8, 2014.
- ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G.; SILVA, M. T. H. Influência da fonte de material e do tempo de cura na propagação vegetativa da pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw). **Rev Bras Frutic**, Cruz das Almas, v. 29, n. 1, p. 183-186, 2007.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods - a brief review. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (United States of America). **Official methods of analysis**. 19 ed. Washington: AOAC, 2012.
- BAMPI, M.; FONTOURALL, P. S. G.; RIBANI, R. H. Chemical composition of fruit, concentrated extract and flour from "Japanese grape". **Ciên Rural**, Santa Maria, v.40, n.11, p. 2361-2367, 2010.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev Nutr**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BECKER, E. M. et al. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **Eur Food Res Technol**, Berlin, v. 219, n. 6, p. 561-571, 2004.

BLOIS, S. M. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, London, v.181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

BELTRÁN-OROZCO, M. C. et al. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus* Riccobono). **Agrociencia**, Texcoco, v. 43, n. 2, p. 153-162, 2009.

BRITO, N. J. N. Benefícios dos antioxidantes naturais no estresse oxidativo. **Facider – Rev Cient**, Colider, v. 1, n. 1, p.1-16, 2012.

CALDAS, R. M. S; VERSLYPE, N. I. Pitaia: Potencial de cultivo na microrregião Sertão do Moxotó através de modelo digital do terreno. **Rev Geama Cienc Amb**, Recife, v. 4, n. 1, p. 15-21, 2016.

CHAVES, M. S. **Plantas alimentícias não convencionais em comunidades ribeirinhas na Amazônia**. 2016. 123p. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

COSTA, A. C. **Adubação orgânica e ensacamento de frutas na produção de pitaia vermelha**. 2012. 69 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

COTINGUIBA, G. G. et al. , T. J. M. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, Londrina, v. 15, n. 3, p. 231-237, 2013.

DALVI, S. M. et al. Nitric oxide, carbonyl protein, lipid peroxidation and correlation between antioxidant vitamins in different categories of pulmonary and extra pulmonary tuberculosis. **Malays J Med Sci**, Kubang Kerian, v. 20, n. 1, p. 21-30, 2013.

DELMONDES, P. H. et al. Substâncias antioxidantes presentes nos vegetais. **Rev Eletron Interdiscip Univar**, Barra do Garças, v. 1 n. 9, p. 1-5, 2013.

DONADIO, L.C. Pitaya. **Rev Bras Frutic**, Cruz das Almas, v. 31, n. 3, p. 637-929, 2009.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH•. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v. 26 n. 2, p. 446-452, 2006.

ESQUIVEL, P.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Phenolic compound profiles and their corresponding antioxidant capacity of purple pitaya (*Hylocereus* sp.) genotypes. **J Biosci**, Bangalore, v. 62, n. 9, p. 636-644, 2007.

FATHORDOOBADY, F. et al. Effect of solvent type and ratio on betacyanins and antioxidant activity of extracts from *Hylocereus polyrhizus* flesh and peel by

supercritical fluid extraction and solvent extraction. **Food Chem**, Barking, v. 202, p. 70-80, 2016.

FIGUEIREDO-FILHO, D. B.; SILVA-JÚNIOR, J. A. da Desvendando os mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, 2009.

GARCIA-CRUZ, L. et al. Physical, chemical and antioxidant activity characterization of Pitaya (*Stenocereus pruinosus*) Fruits. **Plant Foods Hum Nutr**, Dordrecht, v. 68, n. 4, p. 403-410, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICIOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Quím Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 206-213, 2007.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Arch Toxicol**, Berlin, v. 86, p. 345–391, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Free radicals in biology and medicine. 4.ed New York: Oxford University Press, 2007. 851p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para a análise de alimentos**. 4. ed. 1. ed. digital, 1020 p. 2008. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 27 set. 2016.

JUSTUS, L. S. C. **Potencial antioxidante de produtos naturais**. 2014. 109 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINONEN, M. Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity, **J Agric Food Chem**, Washington, v. 49, p. 4076–4082, 2001.

KAMAIRUDIN, N. et al. Optimization of natural lipstick formulation based on pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed oil using D-optimal mixture experimental design. **Molecules**, Basel, v. 19, p. 16672-16683, 2014.

KHALILI, M. A.; ABDULLAH, C. A.; MANAF, A. A. Total antioxidant activity, total phenolic content and radical scavenging activity both flesh and peel of red pitaya and papaya, **Int J Pharm Pharm Sci**, Madhya Pradesh, v. 4, n. 2, p. 113-122, 2012.

KIM, H. et al. Comparative antioxidant and proliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. **J Food Sci**, Chicago, v. 76, n. 1, p. 38-45, 2011.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bêmicas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Rev Bras Farmacogn**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 158-163, 2006.

LIM, H. K. et al. Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus cacti* seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Food Chem**, Barking, v. 119, p. 1326-1331, 2010.

LIMA, C. A. et al. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do Cerrado. **Rev Bras Frutic**, Cruz das Almas, v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.

LIMA, L. M. et al. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 7-11, 2009.

LIRA, S. A. **Análise de correlação: abordagem teórica e de construção dos coeficientes com aplicações**. 2004. 196 p. Dissertação (Mestrado em Métodos Numéricos em Engenharia dos Setores de Ciências Exatas e de Tecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

LITCHFIELD, J. T.; WILCOXON, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. **J Pharm Exper Therap**, Detroit, v. 95, n. 1, p. 99-113, 1949.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Anal Chim Acta**, Amsterdam, v. 763, p. 1-10, 2013.

LUO, H. et al. Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel. **Chem Cent J**, London, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2014.

MAHATTANATAWEE, K. et al. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. **J Agric Food Chem**, Washington, v. 54, n. 19, p. 7355-7363, 2006.

MARQUES, V. B. et al. Profundidade de plantio e dominância apical na estaquia de pitaias vermelhas. **Semin: Ciênc Agrár**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2091-2098, 2012.

MARQUES, V. B. et al. Reproductive phenology of red pitaya in Lavras, MG, Brazil. **Ciênc Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 984-987, 2011.

MELLO, F. R. et al. Antioxidant properties, qualification and stability of betalains from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. **Ciêñ Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 2, p. 323-328, 2015.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med**, Stuttgart, v. 45, p. 31-34, 1982.

MIZRAHI, J. Vine-cacti pitayas - The new crops of the world. **Rev Bras Frutic**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 124-138, 2014.

MOO-HUCHIN, V. M. et al. Determination of some physicochemical characteristics bioactive compounds and antioxidant activity of tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chem**, Barking, v. 152, p. 508-515, 2014.

MOREIRA, R. A. et al. Crescimento de pitaia vermelha com adubação orgânica e granulada bioclástica. **Ciêñ Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 785-788, 2011.

MORETTO, E. et al. **Introdução à ciência de alimentos**. 1ª ed., Florianópolis: Editora da UFSC, 255p., 2002.

MOTTA, E. L. **Avaliação da composição nutricional e atividade antioxidante de *Litchi chinensis* Sonn. (“Lichia”) cultivada no Brasil**. 2009, 100p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

NEPA – NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 2 ed. Campinas, 2004, 42p.

NUNES, E. N. et al. Pitaia (*Hylocereus sp.*): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 90-98, 2014.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quím Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, C. I. A. **Aspectos farmacológicos da Coenzima Q₁₀**. 2012, 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

OLIVEIRA, T. C. **Avaliação das atividades antioxidante e fotoprotetora de extrato e *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) visando aplicações cosméticas**. 2016. 90p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2016.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus spp.*): a short review. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 3, n. 4, p. 220-237, 2012.

ORTIZ, T. A.; TAKAHASHI, L. S. A. Physical and chemical characteristics of pitaya fruits at physiological maturity. **Genet Mol Res**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 4, p. 14422-14439, 2015.

PEREIRA, R. J. **Composição centesimal, aspectos fitoquímicos, atividade antioxidante, hipoglicemiante e anti-hiperlipêmica de frutos do gênero *Syzygium***. 2011, 157p. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

PIMENTEL, M. F. et al. O uso de *Artemia* sp. como organismo-teste para Avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **J Braz Soc Ecotoxicol**, Itajaí, v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011.

PONTES FILHO, F. S. T. et al. Length of cuttings and concentrations of indolebutyric acid (IBA) in the vegetative propagation of pitaya. **Rev Ciên Agron**, Fortaleza, v. 45, n. 4, p. 788-793, 2014.

RAMLI, N. S. et al. Effects of red pitaya juice supplementation on cardiovascular and hepatic changes in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome rats. **BMC Complement Altern Med**, London, v.14 n.189, 2014.

RIBEIRO, S. M. R. et al. The formation and the effects of the reactive oxygen species in biological media. **Biosci J**, Uberlândia, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.

RODRIGUES, K. C. M. **Caracterização química e investigação das atividades antibacteriana e anti-inflamatória tópica de *Vernonia polyanthes* LESS (ASTERACEAE)**. 2013. 144 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

SCHAARS, C. F.; STALENHOEF, A. F. H. Effects of ubiquinone (coenzyme Q10) on myopathy in statin users. **Curr Opin Lipidol**, London, v. 19, n. 6, p. 553-557, 2008.

SCHAEFFER, R. **Métodos de avaliação do teor de nitrogênio em esterco de ave poedeira**. 2009. 66 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade de Passo Fundo, 2009.

SELLÉS, A. J. N. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. **Rev Cub Salud Pública**, La Habana, v. 37, p. 644-660, 2011.

SILVA, A. A.; GONÇALVES, R. C. Reactive oxygen species and the respiratory tract diseases of large animals. **Ciên Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 2010.

SILVA, A. C. C.; MARTINS, A.B.G.; CAVALLARI, L.L. Qualidade de frutos de pitaya em função da época de polinização, da fonte de pólen e da coloração da cobertura. **Rev Bras Frutic**, Cruz das Almas, v. 33, n. 4, p. 1162-1168, 2011.

SILVA, A. C. C. et al. Fenologia reprodutiva da pitaya vermelha em Jaboticabal, SP. **Ciên Rural**, Santa Maria, v.45, n.4, p.585-590, 2015.

SILVA E. C. B. ; GUERRA, M. M. P. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio: Produção e efeitos sobre a integridade estrutural e funcional dos espermatozoides. **Cien Vet Tróp**, Recife, v. 13, n. 1/2/3, p. 9-16, 2010.

SILVA, G. T.; JASIULIONIS, M. G. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciênc Cult**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 38-42, 2014.

SILVA, M. L. C. et al. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semin: Ciên Agrár**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. 2013. 37p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campos Mourão, 2013.

SOUZA, W. L.; MORAIS, E. A. Atividade antioxidante da melatonina sobre o estresse oxidativo em espermatozoides: revisão de literature. **Nutritime Rev Eletr**, on-line, Viçosa, v.13, n. 05, p. 4831- 4839, 2016.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B. de Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciên Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 3, p. 537-543, 2013.

SUH, D. H. et al. Metabolite profiling of red and white pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) for comparing betalain biosynthesis and antioxidant activity. **J Agric Food Chem**, Washington, v. 62, p. 8764-8771, 2014.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **J Funct Foods**, Napoli, v.4, n.1, p.129-136, 2012.

TURUNEN, M. et al. Metabolism and function of coenzyme Q. **Acta Biochim Biophys Sin**, Shanghai, v. 1660, p. 171-199, 2004.

TZE, N. L. et al. Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. **Food Sci Biotechnol**, Seoul, v. 21, n. 3, p. 675-682, 2012.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas e oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Rev Bras Farmacogn**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 384-387, 2007.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago o cinalis* L.) seeds, **Food Chem**, Barking, v. 67, n. 4, p. 399- 414, 1999.

WICHIENCHOT, S; JATUPORNPIPAT, M; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chem**, Barking, v. 120, p. 850-857, 2010.

WU, L. C. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chem**, Barking, v. 95, p. 319-327, 2006.

ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions **J Agric Food Chem**, Washington, v. 8, n. 6, p. 2008-2016, 2000.