

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

CAMILA GAMA DA SILVA

**ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA
APLICAÇÃO DO CORANTE DE *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton &
Rose (Cactaceae) EM COSMÉTICO LABIAL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA

2017

CAMILA GAMA DA SILVA

**ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA
APLICAÇÃO DO CORANTE DE *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton &
Rose (Cactaceae) EM COSMÉTICO LABIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador: Profa. Dra. Lys Mary Bileski Candido

Co-Orientadores: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel e Profa. Dra. Marilis Dallarmi Miguel

CURITIBA

2017

CAMILA GAMA DA SILVA

**ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA E AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DO
CORANTE DE *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose (Cactaceae) EM
COSMÉTICO LABIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – MSc. Francis José Zortéa Merino
Universidade Federal do Paraná

Membro 2 – Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientadora – Profa. Dra. Lys Mary Bileski Candido
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Coordenador de Curso – Prof. Dr. Luiz Marcos Lira de Faria

Curitiba, 01 de dezembro de 2017.

*Dedico este trabalho, com muito amor, à
minha mãe, Elizabeth Gama.*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Elizabeth, que é e sempre foi minha melhor amiga, me deu apoio, suporte e conselhos, que esteve comigo em meus bons e maus momentos durante a graduação, e que se não fosse por ela, eu não teria chegado até aqui.

À minha professora e orientadora, Lys Mary, que acreditou em mim e no meu projeto, que muito me ensinou como profissional e como pessoa ao longo desses três anos juntas.

Ao professor Obdulio, meu co-orientador, por ter me recebido tão bem no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia da UFPR, por ter acreditado neste projeto, por todos os ensinamentos e também pela confiança depositada em mim.

À professora Marilis, minha co-orientadora, por também me receber de forma tão carinhosa no Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia da UFPR e acreditar neste projeto, e por todo o auxílio durante este trabalho.

Ao Francis Zortéa, pós-graduando do Departamento de Farmácia da UFPR, pela amizade e por toda a ajuda e desenvolvimento das análises biológicas.

Ao Jair Lima, técnico do Departamento de Nutrição da UFPR por ter me ajudado nas análises físico-químicas e na extração do corante da casca da *H.undatus*, no laboratório de Pós-Graduação.

A todos os professores que tive durante a graduação, agradeço a rigidez mas também a compreensão. Tudo cooperou para eu ser a pessoa que sou hoje e principalmente a profissional que me tornei.

A todos os colegas e amigos que a UTFPR me deu, cada um foi importante da sua maneira na minha vida durante estes sete anos. Especialmente agradeço à Priscila Karachinski, Luiz Schroeder, Patricia Soares, Priscilla Lopes, Rhaissa Carneiro, Luanne Monteiro, Jessika Perancetta, Cassiana Batista, Avany Judith, Andressa Viana e Ludmilla Holz, choramos, sorrimos, reclamamos e sofremos juntos, nos apoiamos, nos divertimos, muitas coisas passamos, e agora, finalmente, podemos comemorar juntos! Muito obrigada!

RESUMO

SILVA, Camila Gama da. **Estudo da atividade biológica e avaliação da aplicação do corante de *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose (Cactaceae) em cosmético labial**. 2017. Trabalho de conclusão de curso - Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2017.

A *Hylocereus undatus*, também chamada de pitaya e popularmente conhecida como fruta-do-dragão, do inglês, *dragon fruit*, é conhecida por suas propriedades benéficas ao consumo humano e o corante da casca já é utilizado em alimentos em diversos países. Neste trabalho foram estudadas as atividades biológicas da fruta e a avaliação da aplicação o corante da casca em duas formulações cosméticas. A casca foi seca em estufa durante cinco dias a 50 °C. A polpa foi processada em uma centrífuga de sucos tipo *juicer* e peneirada para separação das sementes, depois foi liofilizada e congelada. A partir da casca foram obtidos os extratos: cetônico (CT), hidroalcoólico (HA), etanólico (ET), e um etanólico-aquoso (ETA) formado no vidro do balão durante a concentração do extrato bruto em rotaevaporador. O extrato bruto cetônico foi particionado em frações hexano (CH), clorofórmio (CC) e acetato de etila (CAC), entretanto, o bruto não foi utilizado nos ensaios. O teor de umidade e cinzas para a casca seca foram, respectivamente, $(13,41 \pm 0,07)\text{g}\%$ e $(9,65 \pm 0,03)\text{g}\%$ e para a polpa liofilizada, respectivamente, $(3,4 \pm 0,1)\text{g}\%$ e $(12,2 \pm 0,1)\text{g}\%$. A concentração eficiente (CE_{50}) dos extratos para decrescer em 50% a concentração inicial de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), foi igual a 532,12 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 813,12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 1322,79 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os extratos ET, ETA e HA e 125,35 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 130,98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 732,71 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para CC, CAC e CH, respectivamente, o que representa baixa atividade antioxidante quando comparado aos padrões ácido ascórbico (4,92 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e rutina (6,16 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Nenhum dos extratos foi caracterizado como tóxico quando submetido ao teste de toxicidade *in vitro* com *Artemia salina*. No teste de hemólise *in vitro*, os extratos etanólicos não apresentaram atividade hemolítica. O brilho e o bálsamo labial formulados tiveram alteração de cor pós formulação, supõe-se que houve degradação da betalaína (cor rosa) para ácido crômico (cor amarela) devido ao pH alcalino destes cosméticos.

Palavras-chave: Antioxidantes. Betalaína. Brilho labial. Toxicidade.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AA** – Atividade antioxidante
AOAC – Association of Official Analytical Chemists
CAC – Fração acetato de etila do extrato cetônico
CC – Fração clorofórmio do extrato cetônico
CE₅₀ – Concentração eficiente
CG – Cromatografia Gasosa
CH – Fração hexano do extrato cetônico
DL₅₀ – Dose letal média
DMSO – Dimetilsulfóxido
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazina
EDTA – Etilenodiaminotetrácido
ET – Extrato etanólico bruto
ETA – Extrato etanólico/aquoso
HA – Extrato hidroetanólico
MBM – Museu Botânico Municipal
PBS – Tampão fosfato salino
SDS – Dodecilsulfato de sódio
SST – Sólidos solúveis totais

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Algumas espécies do gênero <i>Hylocereus</i>	11
Figura 2. <i>Hylocereus undatus</i>	12
Figura 3. Sorvete feito com a polpa de <i>H.polyrizhus</i>	16
Figura 4 Estrutura química de betalaínas.....	17
Figura 5. Estrutura química da betanina e filocactina.....	18
Figura 6. <i>H.undatus</i> (Haw.) Britton & Rose cedida pela Embrapa Cerrados.....	19
Figura 7. Exsicata de <i>H.undatus</i> (Haw.) Britton & Rose.....	20
Figura 8. Processo de extração da betacianina da casca.....	23
Figura 9. Extração cetônica da casca seca por Soxhlet modificado.....	24
Figura 10. Extrato cetônico concentrado.....	24
Figura 11 Extrato etanólico.....	25
Figura 12. Redução do radical DPPH à difenil-picril-hidrazina.....	26
Figura 13. Atividade antioxidante do extrato cetônico.....	34
Figura 14. Atividade antioxidante dos extratos etanólicos	35
Figura 15. Atividade antioxidante dos padrões rutina e ácido ascórbico.....	35
Figura 16. Atividade hemolítica dos extratos.....	38
Figura 17. Óleo fixo de <i>H.undatus</i>	40
Figura 18. Brilho e bálsamo labial com betacianina de <i>H.undatus</i>	41
Figura 19. Espectro de absorção da betalaína em diferentes pHs.....	42
Figura 20. Degradação da cor das betacianinas da pitaya em diferentes pHs e com dez minutos de exposição a 100 °C.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação do brilho e bálsamo labial com a betacianina da <i>H.undatus</i>	30
Tabela 2. Porcentagem de umidade para a casca seca e para a polpa <i>in natura</i> e liofilizada.....	31
Tabela 3. Porcentagem de cinzas para a casca seca e para a polpa <i>in natura</i> e liofilizada.....	32
Tabela 4. Teor de SST para os extratos cetônico e etanólico da casca seca.....	33
Tabela 5. Dados da atividade antioxidante (DPPH) para a casca seca.....	33
Tabela 6. Toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>	37
Tabela 7. Hemólise dos extratos brutos e particionados de <i>H.undatus</i>	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. JUSTIFICATIVA.....	13
3. OBJETIVOS.....	14
3.1 OBJETIVO GERAL.....	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
4.1 POTENCIAL COMERCIAL DE <i>Hylocereus</i> sp.....	15
4.2 ESTABILIDADE DA BETACIANINA.....	18
5. METODOLOGIA.....	19
5.1 MATÉRIA-PRIMA.....	19
5.2 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	21
5.2.1 Determinação do teor de umidade.....	21
5.2.2 Determinação do teor de cinzas.....	21
5.2.3 Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST).....	21
5.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DA CASCA SECA.....	22
5.3.1 Extrato aquoso.....	22
5.3.2 Extrato cetônico bruto e frações hexano, acetato de etila e clorofórmio.....	23
5.3.3 Extrato etanólico bruto e hidroetanólico.....	25
5.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	26
5.4.1 Avaliação da atividade antioxidante pela redução do radical DPPH.....	26
5.4.2 Avaliação hemolítica <i>in vitro</i>	27
5.4.3 Teste de toxicidade com <i>Artemia salina</i>	28
5.5 OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DA SEMENTE.....	29
5.6 FORMULAÇÃO DO BRILHO E BÁLSAMO LABIAL.....	30
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.1 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS.....	31
6.1.1 Determinação do teor de umidade.....	31
6.1.2 Determinação do teor de cinzas.....	31
6.1.3 Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST).....	32
6.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	33
6.2.1 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos de <i>H. undatus</i> pela redução do radical DPPH.....	33
6.2.2 Avaliação da toxicidade dos extratos de <i>H. undatus</i> com <i>Artemia salina</i>	36
6.2.3 Avaliação da atividade hemolítica <i>in vitro</i> dos extratos de <i>H. undatus</i>	37
6.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DA SEMENTE.....	39
6.4 FORMULAÇÃO DO BRILHO E BÁLSAMO LABIAL.....	41
7. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

Originária da América, a pitaya, popularmente conhecida como "fruta-do-dragão", pertence à família Cactaceae e ao gênero *Hylocereus* (DONADIO, 2009). O gênero *Hylocereus* possui 18 espécies tropicais americanas, classificadas pela cor da casca e da polpa (GUNASENA et al., 2007), algumas destas estão apresentadas na Figura 1.

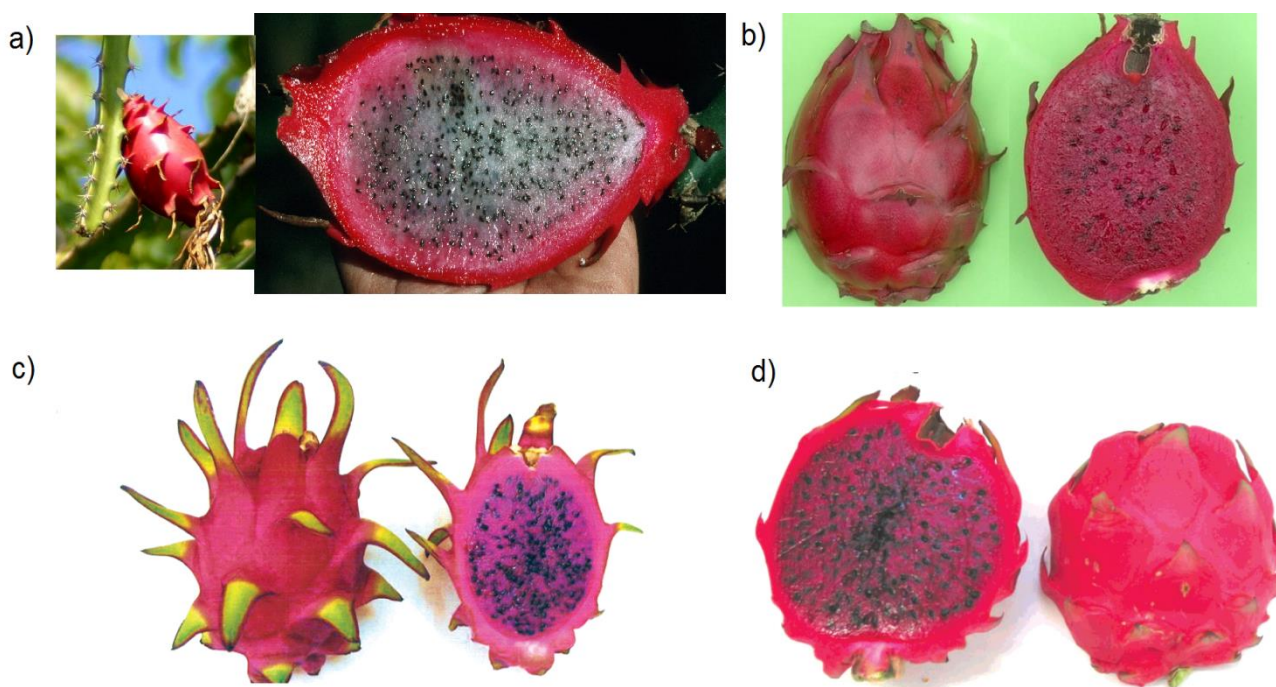


Figura 1. Algumas espécies do gênero *Hylocereus*:

a) *H. trigonus* **b)** *H. ocamponis* **c)** *H. polyrhizus* **d)** *H. costaricensis*.

*FONTES: **a)** <http://www.kingsnake.com/westindian/hylocereustrigonus2.JPG>;

http://plants.usda.gov/gallery/pubs/hytr2_007_php.jpg

b) <http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/90239/>

c) e **d)** WYBRANIEC e MIZRAH, 2002

A princípio, a pitaya foi introduzida mundialmente como uma planta ornamental, depois passou a ser vista como fonte para cultivo (GUNASENA et al., 2007). Seu cultivo se dá no sudeste da Ásia em Bangladesh, na China, Austrália e Israel, embora não seja nativa destes países (EE et al., 2014). No Brasil se concentra principalmente na região sudeste, em estados como o Ceará e no cerrado. No mercado mundial ganhou destaque nos Estados Unidos e na Europa por suas propriedades benéficas em todo o fruto (NUNES et al., 2014).

A fruta possui sabor doce e suave, polpa firme, propriedades nutricionais e funcionais e pode ser considerada pouco ácida (LIMA et al., 2013). É conhecida por

sua coloração intensa, seus constituintes minerais, vitaminas e propriedades antioxidantes, além de ser rica em proteína, fibra, óleo e cinzas (TZE et al., 2012). A polpa possui aspecto gelatinoso devido à presença de carboidratos como celulose, hemicelulose e polímeros de sacarídeos simples (ARIFFIN et al., 2009), é fonte de oligossacarídeos prebióticos, assim como a casca. Contudo, a polpa possui maior quantidade e pode ser considerada uma rica fonte quando comparada ao mamão. Os açúcares solúveis encontrados são glicose, frutose e sacarose (KHALILI et al., 2014).

A *Hylocereus undatus* (Figura 2) possui casca vermelha e polpa branca com sementes pequenas. A cor vermelha da casca ocorre pela presença da betalaína, corante sintetizado a partir do aminoácido tirosina, nitrogenado, hidrossolúvel, separado em dois grupos: betacianinas e betaxantinas. As betaxantinas têm cor característica amarelo-laranjado e são ausentes na *H.undatus*. As betacianinas têm cor característica vermelho-violeta e estão presentes na casca da *H. undatus* (AZEREDO, 2009). Devido a esta coloração, a *H. undatus* é uma fonte de coloração natural grandemente promissora. Considerando a resposta negativa dos consumidores, a indústria está renovando seu interesse em substituir corantes sintéticos vermelhos por corantes naturais vermelhos em alta demanda (VAILLANT et al., 2004). Além dos impactos negativos dos efeitos colaterais promovidos pelos corantes sintéticos terem crescido mundialmente, a substituição destes por corantes naturais atendeu os fins de coloração e proporcionou benefícios nutricionais adicionais aos consumidores, ganhando a preferência da indústria mesmo com o custo de produção mais elevado (TZE et al., 2009).

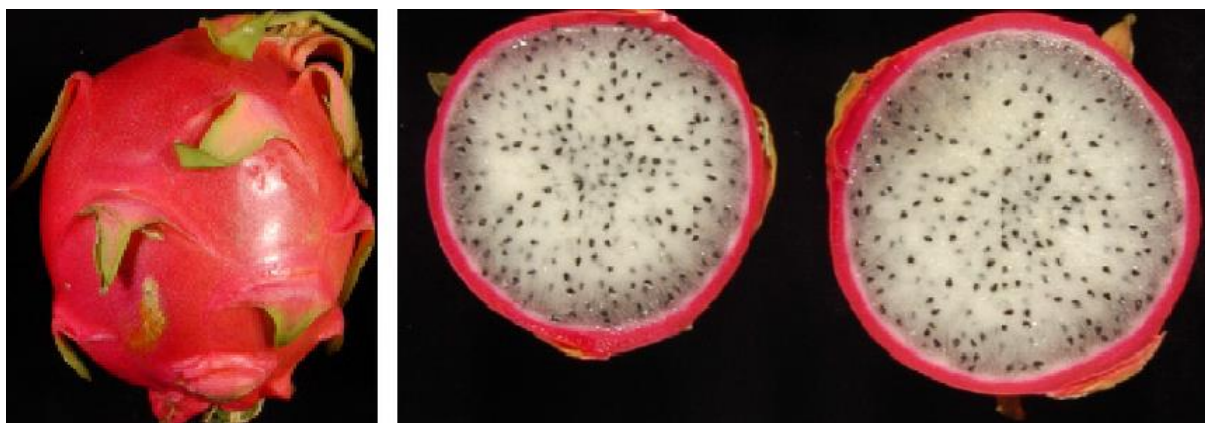


Figura 2: *Hylocereus undatus*
*FONTE: FREITAS e MITCHAM, 2013.

2. JUSTIFICATIVA

O uso de corantes naturais data da pré-história e é tão antigo quanto a civilização humana (ABURJAI et al., 2003). A crescente procura por estes corantes está relacionada às preocupações com segurança ambiental e também para substituir o uso de certos corantes sintéticos prejudiciais à saúde (ABURJAI et al., 2003).

A betalaína já tem sido empregada como corante alimentar e em medicamentos, legalizada oficialmente na Europa para a coloração de alimentos (DAWSON, 2009). A mais importante fonte de betalaína é a beterraba, preparada comercialmente principalmente por betanina e seu isômero C-15, a isobetanina (ESQUIVEL et al., 2007). A pitaya também pode ser considerada uma potencial fonte de betalaína, utilizada como corante, possuindo maiores vantagens como a coloração vermelho-púrpura mais intensa devido à ausência das betaxantinas, capacidade antioxidante *in vitro* tão alta quanto a da beterraba (VAILLANT et al., 2005), e maior concentração de betacianina (0,23 - 0,39% de frutos cáceos comparado a 0,02 - 0,21% da beterraba) (NILSSON, 1970). Além disto, a beterraba possui geosmina e pirazina, responsáveis pelo sabor característico de terra e possuem alta concentração de nitrato associados com a formação de nitrosaminas carcinogênicas (ESQUIVEL et al., 2007).

Além da importância como corante, a betalaína desempenha um papel importante na saúde humana por suas atividades farmacológicas, como atividades antioxidante, neoplásica, anti-lipidêmicos e antimicrobiana (GENGHATARAN et al., 2015).

Embora os corantes naturais ganhem a preferência do consumidor, a estabilidade da cor, o odor, a transparência e os compostos ativos são muitas vezes um fator limitante para sua aplicação também em cosméticos (ABURJAI et al., 2003), por isso a importância do estudo fitoquímico e a avaliação da aplicação do corante da casca de *H.undatus* em fórmula cosmética.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Extração do corante da casca de *Hylocereus undatus* e aplicação em formulação labial, avaliação da atividade biológica dos extratos cetônicos e etanólicos da casca, brutos e particionados, e extração do óleo fixo das sementes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Extrair o corante betacianina da casca seca de *H. undatus*;

Obter o extrato etanólico bruto da casca seca e a partir deste, um extrato hidroetanólico;

Obter o extrato cetônico bruto da casca seca e a partir deste, frações hexano, clorofórmio e acetato de etila;

Avaliar a atividade biológica dos extratos cetônicos e etanólicos da casca seca;

Avaliar o rendimento de óleo fixo da semente de *H.undatus*;

Aplicar o corante em cosmético: brilho e bálsamo labial.

4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 POTENCIAL COMERCIAL DE *Hylocereus* sp.

No aspecto comercial a pitaya tem potencial, pois além de sua casca e polpa, os subprodutos também podem ser utilizados, aumentando sua rentabilidade, a substância péctica da polpa pode ser utilizada na indústria alimentícia como agente espessante ou na indústria de cosméticos como hidratante (SCHWEIGGERT et al., 2009).

Nas sementes, pequenas e macias (WYBRANIEC e MIZRAH, 2002), encontra-se o óleo essencial com potencial antioxidante (ADNAN et al., 2011) e alto teor de ácidos graxos essenciais ou poli-insaturados. Em ordem decrescente de concentração estão o ácido linoleico (maior concentração do que a canola e a uva), ácido linolênico, ácido oleico e ácido palmítico (ARIFFIN et al., 2009; RUI et al., 2009). Ácidos graxos essenciais nutrem a pele, os cabelos e as unhas (apresentando resposta em unhas quebradiças), ajudam na prevenção da queda de cabelo, na eliminação de eczema, psoríase e caspa (CUNNANE e ANDERSON, 1997), equilibram o metabolismo da pele pelo controle do fluxo de óleos e a nutrição de colágeno.

Os flavonoides presentes na semente são catequina, quercetina, miracetina, epicatequina e rutina (ADNAN et al., 2011). A presença de vitamina E (VILLALOBOS-GUTIERREZ et al., 2012) também é um atrativo diferencial. Além disto, as sementes possuem captina, utilizada para fins medicinais como tônico cardíaco. Seu óleo tem efeito laxante controlando a gastrite e infecções dos rins, é eficaz contra a dor de cabeça e pode ser usado também em xampus (DONADIO, 2009).

A fruta como potencial alimentício (NUNES et al., 2014) pode ser processada em sucos, vinhos e saladas ou consumida em sua forma *in natura* (JUNQUEIRA et al., 2002). Na Malásia, além da produção do suco também ocorre a produção de licor (EE et al., 2014). Em Israel a polpa da espécie *H.polyrhythus* é usada na produção de sorvete de cor vermelho-violeta (Figura 3), tem potencial para ser utilizado em bebidas lácteas de baixa temperatura e em bebidas leves, com ou sem outros sucos de frutas (WYBRANIEC e MIZRAH, 2002). A fruta no seu estado natural pode ser adicionada

como parte da dieta humana, pois apresenta alto teor de carboidratos (11,82% na polpa) e alto teor de fibras (4,33% na casca) (OLIVEIRA et al., 2010).



Figura 3: Sorvete feito com a polpa de *H. polyrizhus*.
*FONTE: <http://nnlgourmet.tumblr.com/post/10311770374>

Os corantes de origem natural, ou biocorantes, são preparados a partir de fontes renováveis (RYMBAI et al., 2011) e estão ganhando popularidade por apresentarem menor risco à saúde, menor toxicidade, propriedades anticarcinogênicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e por reduzirem o risco de doenças crônicas (RYMBAI et al., 2011), além de serem biodegradáveis (CHET, 2009). Embora tenham alcançado destaque na indústria de alimentos nos últimos anos devido ao seu valor nutricional, isto não ocorreu da mesma forma em produtos cosméticos, ainda que estes possuam propriedades antioxidantes que retardam o processo de envelhecimento (SETAPAR et al., 2014). De modo geral, os corantes artificiais vêm sendo criticamente avaliados (STRACK et al., 2003), pois suas cores derivam de minerais (cromato de chumbo, sulfato de cobre) e causam sério risco à saúde (RYMBAI et al., 2012).

As propriedades ideais dos corantes são atoxicidade, ausência de impurezas prejudiciais à saúde, elevado poder de coloração de modo que seja suficiente o uso de pequenas quantidades, solubilidade em água preferencialmente e na minoria dos

casos, solubilidade em óleo, não possuir cheiro e nem sabor, ter alta disponibilidade e baixo custo (ALLAM et al., 2011).

A betalaína é uma classe de pigmentos naturais, hidrossolúvel, que se divide em dois grupos estruturais derivados do ácido betalâmico (Figura 4): o grupo das betacianinas, de coloração vermelho-púrpura, e o grupo das betaxantinas, de coloração amarelo-laranja (AZEREDO, 2009). É o quinto corante mais utilizado em alimentos (JACKMAN e SMITH, 1996).

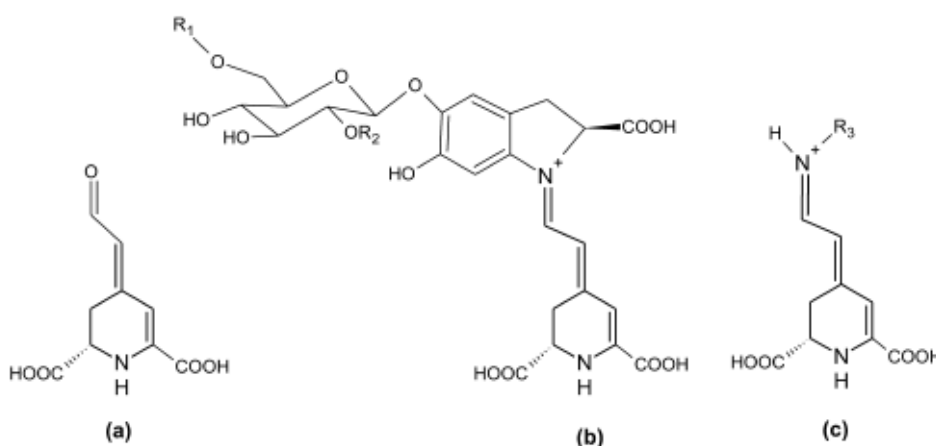


Figura 4: Estrutura química de betalaínas
(a) ácido betalâmico: cromóforo de todas as betalaínas; **(b)** betacianina ($R_1 = R_2 = H$);
(c) betaxantina ($R_3 =$ grupo amina ou aminoácido)
*FONTE: (STRACK et al., 2003).

A betalaína da pitaya é empregada em iogurtes e sorvetes (WOO et al., 2011), pode servir como corante para produtos alimentares de baixa acidez (STINTZING et al., 2002) e confere gosto agradável aos alimentos (RYMBAI et al., 2011). Além do potencial como corante, a pitaya ainda apresenta benefícios nutricionais ao consumidor (TZE et al., 2012) e seus hidrocolóides podem ser usados como agentes ligantes de água em alimentos, cosméticos e na indústria farmacêutica (SCHWEIGGERT et al., 2009).

A betalaína começou a ganhar atenção dos pesquisadores entre 1960 e 1970 (STINTZING et al., 2007). Na espectroscopia UV-Vis, a betalaína apresenta um pico em 535-540 nm, característico das betacianinas e as betaxantinas apresentam um pico em 480 nm. Sua coloração vermelho-púrpura varia de acordo com as substituições feitas na betacianina (STINTZING et al., 2004).

Dez betacianinas estão presentes na casca e sete destas, como a isobetanina e isofilocactina, todas com o mesmo comprimento de onda em análise UV-Vis, contribuem para dar cor característica às espécies de pitaya vermelha (STINTZING et

al., 2002), estando a betanina e filocactina (Figura 5) em maior concentração (WYBRANIEC e MIZRAH, 2002).

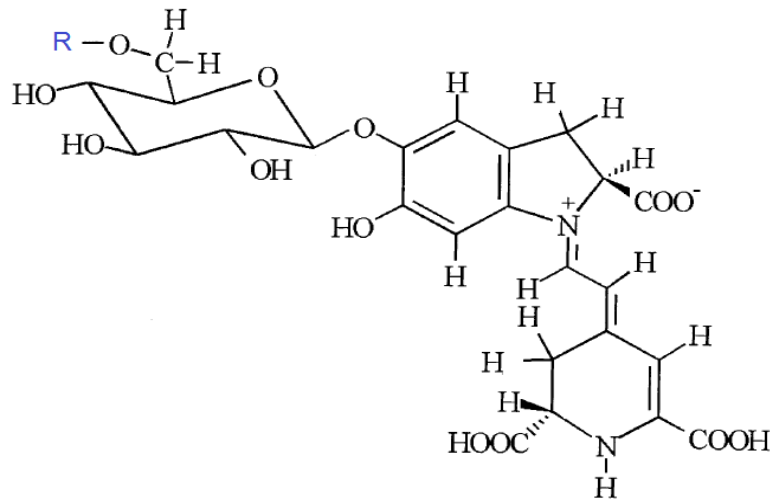


Figura 5: Estrutura química da betanina (R = H) e filocactina (R= COCH₂COOH)
*FONTE: (WYBRANIEC e MIZRAH, 2002)

4.2 ESTABILIDADE DA BETALAÍNA

As betacianinas são geralmente afetadas por pH, temperatura, oxigênio, luz e atividade de água (EE et al., 2014). O corante é estável na ausência de luz, sob baixas temperaturas (especialmente 4 °C), em uma faixa de pH de 3 a 7 (com um máximo em pH 5, sendo mais estável em pH 3 do que em pH 7) (WOO et al., 2011).

Com tratamento enzimático e adição de ácido ascórbico, 70% da betacianina é retida (HERBACH et al., 2007). Uma leve acidificação aumenta a estabilidade das betacianinas e evita a oxidação por polifenoloxidasas (AZEREDO, 2009), enzima pertencente ao grupo das oxirredutases, envolvidas com o escurecimento enzimático através da oxidação de difenóis, transformando-os em quinonas na presença do oxigênio molecular (ALVARENGA et al., 2011).

A degradação da betacianina é acelerada também por cátions de ferro, cobre, alumínio e estanho. Em relação à luz, a absorção desta excita o elétron do ácido betalâmico para um estado π^* mais energético, aumentando a reatividade ou diminuindo a energia de ativação da molécula (JACKMAN e SMITH, 1996).

5. METODOLOGIA

5.1 MATÉRIA-PRIMA

A fruta *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose utilizada neste trabalho (Figura 6) foi cedida pela Embrapa Cerrados, localizada em Planaltina/DF. As frutas foram coletadas dia 13 de abril de 2015 pelo Prof. Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira, nas coordenadas 47°42'00"W e 15°35'30"S, a 1175 metros em altitude. A identificação da espécie vegetal foi realizada pelo biólogo botânico José Tadeu Motta, do Museu Botânico Municipal (MBM) de Curitiba-PR, localizado no Jardim Botânico de Curitiba, onde está depositada a exsicata sob o número 162395, apresentada na Figura 7.



Figura 6. *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose cedida pela Embrapa Cerrados



Figura 7: Exsicata de *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose depositada no MBM de Curitiba sob número de registro 162395

A fruta foi separada em casca, polpa e sementes. A casca foi seca em estufa (SOLAB SL-102) durante cinco dias a 40 °C, depois moída em um moinho de martelos.

A polpa foi processada em um extrator de suco tipo *juicer*, depois foi peneirada manualmente em uma peneira número 8, de 2,36 mm para separação desta e das sementes. Após a separação, foi congelada a aproximadamente -18 °C e liofilizada (liofilizador Dreno L101). Após a liofilização, foi armazenada novamente no freezer à -18 °C.

A semente foi seca em estufa (SOLAB SL-102) durante três dias a 40 °C e armazenada em frasco de vidro com tampa, à temperatura ambiente, protegida da luz. Neste trabalho, porém, somente foi calculado o rendimento de óleo, a caracterização dos ácidos graxos por CG-MS será realizada posteriormente.

5.2 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

5.2.1 Determinação do teor de umidade

Este ensaio foi realizado seguindo a metodologia da Association of Official Analytical Chemists – AOAC - (1997) para a casca seca e para a polpa liofilizada sem semente, em quadruplicata. Cinco gramas de amostra foram pesadas em pesa-filtros tarados e com massa previamente estabelecida. Os pesa-filtros com a amostra foram levados à estufa (SOLAB SL-102) à $(105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5)^{\circ}\text{C}$ por uma hora, depois colocados em dessecador por trinta minutos, estando prontos novamente para pesagem; este procedimento foi repetido até massa constante.

5.2.2 Determinação do teor de cinzas

Este ensaio foi realizado em quadruplicata seguindo o método da AOAC (1997) para a casca seca e para a polpa liofilizada sem semente. Cinco gramas de amostra foram pesadas em cadinhos de porcelana tarados e com massa previamente estabelecida. Os cadinhos com a amostra permaneceram na mufla $(550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5)^{\circ}\text{C}$ até a obtenção de cinzas claras (queima total da matéria orgânica).

5.2.3 Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis são compostos responsáveis pelo sabor do vegetal, entre eles estão os ácidos, sais, vitaminas, aminoácidos e algumas proteínas, porém os açúcares compõem a maior fração encontrada (BANERJEE et al., 2008). A metodologia mais utilizada para a determinação dos sólidos solúveis é fundamentada na leitura refratométrica de uma amostra em °Brix, sendo 1 °Brix igual a um grama de sólidos dissolvidos em 100 gramas de matéria prima (ABREU et al., 2012; LIM et al., 2007).

Este ensaio foi realizado em triplicata para os extratos cetônicos e etanólicos e para a polpa *in natura* e liofilizada, ambas sem semente, seguindo a metodologia da AOAC (1997). Uma alíquota de 10 mL da amostra foi transferida para uma cápsula de porcelana (CP) tarada e com massa previamente estabelecida. A cápsula com o extrato foi levada em banho-maria (Quimis Q334M-28). O teor de sólidos solúveis totais foi determinado através da Equação 1:

$$\text{SST} \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Massa da CP com amostra} - \text{Massa da CP}}{10} \quad (1)$$

5.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DA CASCA SECA

5.3.1 Extrato aquoso

O extrato aquoso (Figura 8) para obtenção do corante foi obtido através da homogeneização da casca seca moída com água destilada (1:5 m/v) com o auxílio de um agitador mecânico (Deluq DL310-1P) (sem tempo pré-determinado, até completa homogeneização da amostra. A amostra foi colocada em uma peneira número 8, de 2,36 mm contendo um pano fino sobre a mesma, com o intuito de não permitir resíduos de casca passarem. À casca homogeneizada na peneira adicionou-se água destilada até cobrir a amostra, depois, com o auxílio de uma colher, a amostra foi pressionada contra a peneira, para extrair o máximo de corante. Este procedimento foi feito até a casca não apresentar mais coloração. Uma fração do extrato foi utilizada para a determinação do teor de sólidos solúveis totais, o restante foi congelado a -18 °C, protegido da luz para não degradar a betacianina, e depois liofilizado (liofilizador Dreno L101).

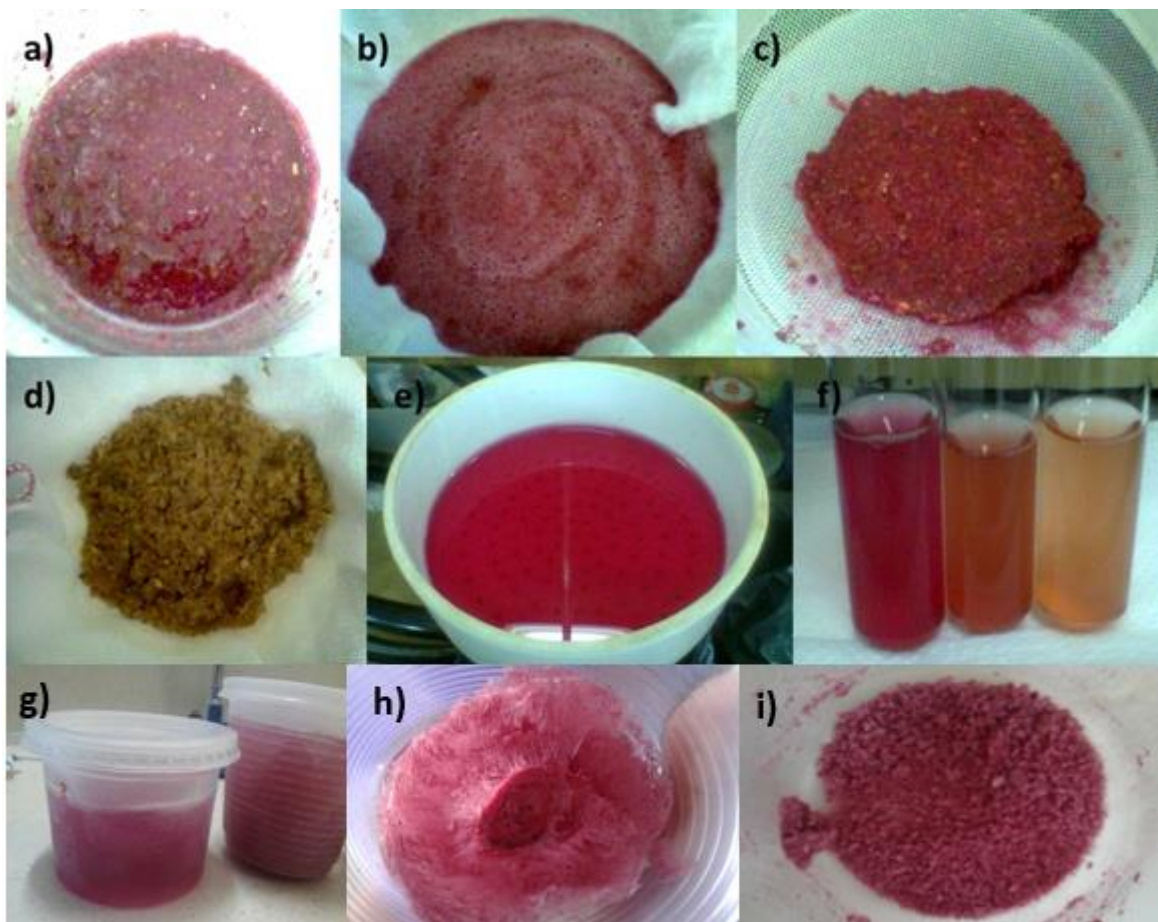


Figura 8: Processo de extração da betacianina da casca:

- a)** Casca seca homogeneizada com água; **b)** Casca homogeneizada com excesso de água em um pano fino sob a peneira; **c)** Casca homogeneizada após a passagem de água pelo pano e peneira; **d)** Casca seca após a extração total de betacianina caracterizada pela ausência de coloração rosa; **e)** Filtração do extrato aquoso obtido nas etapas anteriores; **f)** Extratos obtidos durante a extração da betacianina; **g)** Extrato aquoso congelado; **h)** Extrato aquoso liofilizado (corante); **i)** Corante liofilizado triturado

5.3.2 Extrato cetônico bruto e frações hexano, acetato de etila e clorofórmio

O extrato cetônico foi obtido pelo método de extração em Soxhlet modificado (registro PI 0601703-7; CARVALHO et al., 2009) (Figura 9) utilizando dois litros de acetona P.A, até o extrato não possuir mais coloração. O extrato foi concentrado (Figura 10) em rotaevaporador, até evaporação completa do solvente, durante uma hora - utilizando um balão de 1000 mL, a 100 rpm e banho-maria a 60 °C. Para retirar o concentrado do balão, água e metanol foram adicionados em diferentes volumes, tendo maior êxito a solubilização com metanol. O líquido com o concentrado solubilizado foi transferido para um frasco de vidro previamente pesado e identificado,

depois foi levado para ao banho-maria (Quimis Q334M-28) onde ficou por sete dias até completa evaporação dos solventes. O extrato concentrado foi particionado em frações hexano, clorofórmio e acetato de etila, utilizando o mesmo método. Todos os extratos foram armazenados em frascos de vidro, protegidos da luz, à temperatura ambiente.



Figura 9: Extração cetônica da casca seca por Soxhlet modificado



Figura 10: Extrato cetônico bruto concentrado:
a) visto de lado b) visto de baixo c) Extrato cetônico concentrado com metanol e água

5.3.3 Extrato etanólico bruto e hidroetanólico

O extrato etanólico (Figura 11) foi obtido pelo método de extração em Soxhlet modificado utilizando dois litros de solvente, até o extrato não apresentar mais coloração. O extrato foi concentrado em rotaevaporador (Fisatom 802) sem evaporar totalmente o solvente para permitir a transferência do concentrado para um frasco de vidro previamente pesado e identificado (Figura 11 a). A concentração deste extrato durou três horas, utilizando um balão de 2000 mL, a 100 rpm e banho-maria (Quimis Q334M-28) a 50 °C. Após a retirada do concentrado do balão, observou-se um precipitado nas paredes deste (Figura 11 b;c), que foi solubilizado com água destilada, a esta fração deu-se o nome de etanólico/aquoso. O extrato etanólico também foi particionado com água, em Soxhlet modificado, originando o extrato hidroetanólico.

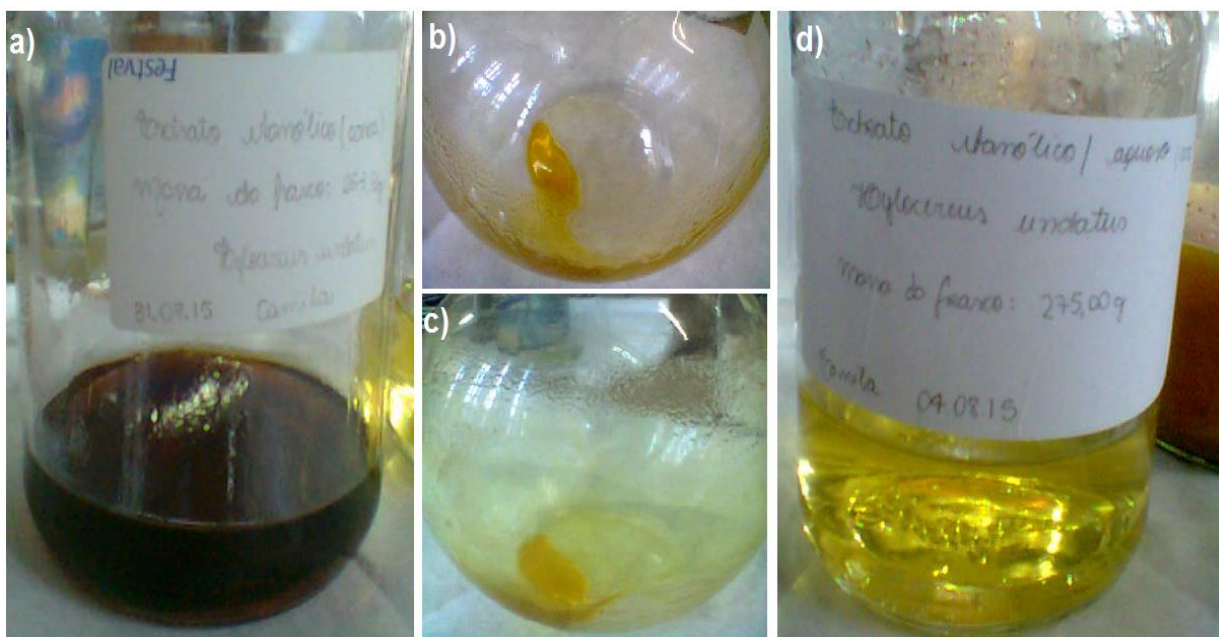


Figura 11: Extrato etanólico **a)** bruto **b)** e **c)** precipitado resultante do extrato etanólico; **d)** Extrato etanólico/aquoso

Os recipientes com os extratos obtidos foram levados ao banho-maria (Quimis Q334M-28) a 60 °C, durante seis dias, até evaporação completa dos solventes.

5.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.4.1 Avaliação da atividade antioxidante pela redução do radical DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazina)

DPPH é um radical livre, estável em solução por apresentar um elétron desemparelhado em sua estrutura, apresenta cor roxa e absorve em 518 nm em metanol. Este ensaio ocorre por uma reação radicalar, como demonstram as Equações 2, 3 e 4 (OLIVEIRA, 2005), e a Figura 12, onde o DPPH• aceita um átomo de hidrogênio da molécula antioxidante, resultando em redução de DPPH• à difenil-picril-hidrazina alterando a cor de púrpura para amarelo, com diminuição da absorbância (MISHRA et al., 2012).

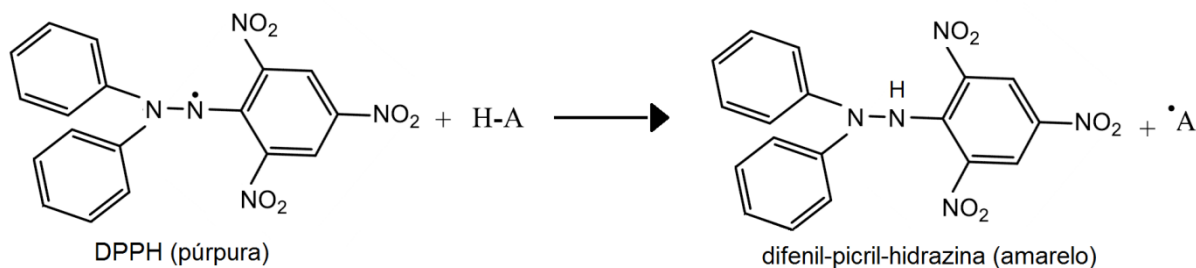


Figura 12: redução do radical DPPH à difenil-picril-hidrazina. Sendo H-A a molécula doadora de elétrons (antioxidante) e •A o radical livre produzido.

*Figura adaptada de Molyneux (2004)

O objetivo deste ensaio é determinar a quantidade de antioxidante necessária para decrescer em 50% a concentração inicial de DPPH, chamada de concentração eficiente (CE_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor a CE_{50} , ou seja, maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

O potencial de redução do radical DPPH foi determinado para todos os extratos, com exceção do cetônico bruto e do aquoso, em triplicata, segundo o método descrito por Mensor et al. (2001). Uma solução de 0,120 mg/mL de DPPH em metanol foi preparada e protegida da luz com papel alumínio. As concentrações das amostras variaram de acordo com os extratos. Para o extrato etanólico bruto, as concentrações

aplicadas variaram de (250 a 550)µg/mL, para o hidroetanólico de (170 a 550)µg/mL e para o etanólico/aquoso de (100 a 300)µg/mL. As frações do extrato bruto cetônico: hexano, clorofórmio e acetato, foram avaliadas nas concentrações de (200 a 350)µg/mL, de (100 a 300)µg/mL e de (10 a 150)µg/mL, respectivamente. O volume de DPPH adicionado em cada concentração, para cada extrato, foi de 1 mL. O controle negativo foi feito com 2,5 mL de metanol e 1 mL de DPPH. Os padrões usados como controle positivo foram ácido ascórbico (1,6 µg/mL, 3,2 µg/mL, 4,8 µg/mL, 6,4 µg/mL e 8 µg/mL), e rutina (2 µg/mL, 4 µg/mL e 6 µg/mL, 8 µg/mL), ambos da Merck®. Após 30 minutos de reação ao abrigo da luz, as amostras foram lidas a 518 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu UV-1800), utilizando metanol como branco. A atividade antioxidante (AA) de cada extrato, equivalente à porcentagem de DPPH consumida pelo mesmo, foi calculada através da Equação 5:

$$AA(\%) = \frac{\text{Média da Abs do controle negativo} - \text{Média da Abs da concentração analisada}}{\text{Média da Abs do controle negativo}} \times 100 \quad (5)$$

As duas variáveis, concentração do extrato e respectiva AA, foram então relacionadas através de um gráfico, feito através do programa OriginPro 8.0, com equação de reta $AA(\%) = a + b \cdot \text{Concentração}/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$, onde a = coeficiente linear e b = coeficiente angular, fornecidos pelo programa após ajuste linear. Utilizando os valores dos coeficientes, e sendo 50 o valor referente aos 50% que se deve reduzir o DPPH, a CE_{50} foi calculada através da Equação 6:

$$CE_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (6)$$

5.4.2 Avaliação hemolítica *in vitro*

A hemólise se refere à lise/ruptura das membranas das hemácias, liberando hemoglobina para o plasma, tendo como consequência a hemoglobinemia (PAULA et al., 2014), que induz efeitos prejudiciais à saúde, principalmente nos rins (nefrotoxicidade) e no sistema cardiovascular (efeito vasomotor) (CARVALHO et al., 2007).

Para o ensaio da atividade hemolítica foi utilizada a técnica proposta por Banerjee (2008) adaptada por Henneberg (2013), empregando solução de hemácias de carneiro em tampão fosfato salino (PBS) (papa de eritrócitos 2% em PBS).

A papa de eritrócitos foi obtida a partir de sangue de carneiro homogeneizado (Newprov®), lavado com tampão fosfato gelado e centrifugado a 3000 rpm por cinco minutos, este procedimento foi repetido até o sobrenadante não apresentar mais coloração (não ocorrência de hemólise). O centrifugado livre de sobrenadante (papa de eritrócitos) foi diluído a 2% em PBS. Os extratos foram testados em concentrações de 100, 250, 500 e 1000 µg/mL, em triplicata. Em *eppendorfs* foram colocados 200 µL dos extratos diluídos em PBS e 200 µL de solução de eritrócitos a 2%. Para a realização dos controles, as amostras foram substituídas por PBS para o controle negativo (hemólise basal) e por água destilada para o controle positivo (hemólise total). As amostras foram incubadas em estufa (SOLAB SL-102) por três horas a 37 °C. Após incubação, os *eppendorfs* foram centrifugados por cinco minutos a 3000 rpm (SCILOGEX D3024). Foi observada a ocorrência ou não da formação de hemólise total (solução límpida, vermelha e sem depósito de eritrócitos) nos sobrenadantes. Para a quantificação da hemólise, os sobrenadantes foram pipetados para uma placa de ELISA e a absorbância (Abs) lida em 540 nm (Thermo Scientific - MULTISKAN FC). A hemólise foi calculada com base nos valores de absorbância do tubo de hemólise total, cujo valor é considerado 100%. Os dados obtidos foram submetidos à análise variância (ANOVA) ($\alpha=0,05$).

A taxa de hemólise foi calculada segundo a Equação 7:

$$Hemólise (\%) = \frac{Abs\ amostra - Abs\ basal}{Abs\ total - Abs\ basal} .100 \quad (7)$$

5.4.3 Teste de toxicidade com *Artemia salina*

Alguns ensaios biológicos são realizados paralelamente aos estudos de propriedades químicas na busca de princípios ativos em espécies vegetais. Para a detecção de atividades biológicas, ensaios pré-seletivos são utilizados, neles são efetuadas triagens com modelos experimentais menos complexos, como o ensaio de

toxicidade em *A.salina*, um microcrustáceo marinho. Este ensaio baseia-se no princípio de que substâncias bioativas quase sempre são tóxicas em doses altas, permitindo sua utilização para seleção de extratos pela avaliação da letalidade em um organismo animal simples (MOREIRA et al., 2013).

Para este ensaio foram utilizados ovos de crustáceo da espécie *A.salina* e procedeu-se o preparo do ensaio conforme metodologia citada por Meyer et al. (1982). Os cistos de *A.salina* foram adquiridos em loja de aquários. A eclosão ocorreu em um béquer com solução salina (200 mg/L), por 24 horas em estufa DBO ajustada para 28 °C, depois inseridos nos meios-teste e controles. As soluções dos extratos nas concentrações de 10, 100, e 1000 µg/mL de dimetilsulfóxido (DMSO) 1% em solução salina foram testados em triplicata. Após a eclosão dos ovos, dez larvas de *A.salina* foram transferidos para *ependorfs* contendo os extratos e os controles, sendo o volume completado para 1,5 mL. A solução salina foi usada como controle negativo e para controle positivo foram usadas soluções de dodecil sulfato de sódio (SDS) em concentrações de 10, 20 e 30 µg/mL. As amostras e controles foram incubadas em estufa (27-30 °C) por 48 horas. A contagem dos náuplios mortos foi realizada em 24h e 48h. Os dados foram analisados com o método estatístico Probitos e determinados os valores de Dose Letal Média com intervalo de 95% de confiança.

5.5 OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DA SEMENTE

O óleo fixo da semente seca foi obtido através de extração em Soxhlet modificado, durante seis horas, à aproximadamente 68 °C, utilizando dois litros de hexano. Após a extração o óleo foi destilado por seis horas e armazenado em um frasco de vidro previamente pesado, vedado com filme PVC. O rendimento foi calculado segundo a Equação 8:

$$\text{Óleo fixo (\%)} = \frac{(\text{massa do frasco com óleo} - \text{massa do frasco vazio}) (g)}{\text{massa total de semente seca (g)}} \cdot 100 \quad (8)$$

5.6 FORMULAÇÃO DO BRILHO E BÁLSAMO LABIAL

A fórmula do brilho labial foi adaptada de Carvalho et al. (2011). A Tabela 1 apresenta a fórmula apresentada pelo autor e as utilizadas neste trabalho. O brilho labial, apresentado na coluna três, foi manipulado em béquer de vidro de 50 mL à temperatura ambiente.

Tabela 1: formulação proposta por Carvalho et al. (2011) e utilizadas neste trabalho com a betacianina da *H.undatus* (HU)

Componente	Carvalho et al. (2011)	Brilho labial com betacianina da <i>H.undatus</i>	Bálsamo labial com betacianina da <i>H.undatus</i>	Função ¹
	Concentração/%	Concentração/%	Concentração/%	
Acetato de tocoferol	1,00	1,00	1,00	Antioxidante
Água destilada	10,00	10,00	10,00	Solvente
Carboximetilcelulose	0,15	0,15	0,15	Espessante
Fenoxietanol, Metilparabeno, Butilparabeno, Etilparabeno, Propilparabeno	0,15	0,20 ²	0,20 ²	Antioxidante
Glicerina	40,00	50,00	50,00	Emoliente, Umectante
Propilenoglicol	2,00	2,00	2,00	Umectante, Estabilizante
Sorbitol	qsp ³	31,85	31,85	Umectante, Estabilizante, Edulcorante
Extrato da pimenta dedo-de-moça	5,00	0	0	-
Polpa de melancia	5,00	0	0	-
Perfume	qs ⁴	0	0	-
Betacianina da HU	0	5,00	5,00	-
Emulself B-2	0	0	20,00 ⁵	Emoliente, hidratante

¹ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6ª ed. Chicago: Pharmaceutical Press, 2009.

²Nesta formulação apenas foram utilizados metilparabeno (nipagin) e propilparabeno (nipazol)

³qsp: quantidade suficiente para completar 100%

⁴qs: quantidade suficiente

⁵Para a formulação do bálsamo labial, primeiramente foi feito o brilho labial, conforme mostra a coluna três, posteriormente, 20% de Emulself B-2 (referente à concentração total de brilho - 100%) foi pesado e colocado sobre uma pedra de mármore previamente limpa com solução de etanol 77%. O brilho foi incorporado à base emulgente pelo método de espatulação, onde as duas fórmulas são misturadas com o auxílio de uma espátula de metal, sendo pressionadas contra a pedra para retirada do ar.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

6.1.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade obtido para a casca seca e para a polpa *in natura* foi baixa, conforme o esperado, devido à secagem em estufa e à liofilização, respectivamente. A liofilização reduziu o teor de umidade em aproximadamente sete vezes. Os resultados encontrados neste trabalho estão apresentados na Tabela 2:

Tabela 2: Porcentagem de umidade para a casca seca e para a polpa *in natura* e liofilizada

Parte da fruta		Umidade/g%
Casca seca		9,65 ± 0,03
Polpa	<i>In natura</i>	86,0 ± 0,1
	Liofilizada	12,2 ± 0,1

Não foram encontrados valores de referência na literatura para a casca seca e para a polpa liofilizada. Mello (2014) encontrou teor de 86,21 g% para a polpa *in natura* também cedida pela Embrapa Cerrados, resultado semelhante ao deste trabalho. Na literatura, os teores encontrados para a casca *in natura* são 86,89 g% (OLIVEIRA et al., 2010) e 91,59 g% (DUARTE et al., 2013), aproximadamente nove vezes maiores quando comparados à casca seca.

Além da maior concentração dos compostos ativos, matérias-primas secas apresentam maior estabilidade química, físico-química e microbiológica e elevada capacidade de transformação em diferentes formas farmacêuticas sólidas (OLIVEIRA e PETROVICK, 2010), vantagem das formas seca e liofilizada apresentadas neste trabalho.

6.1.2 Determinação do teor de cinzas

As cinzas, também chamadas de mineral fixo, são o produto inorgânico após a queima da matéria orgânica da amostra e se apresentam sob a forma de cloretos,

fosfatos, óxidos, silicatos e sulfatos, dependendo das condições de incineração e da composição do alimento (CARVALHO et al., 2007). O teor de cinzas encontrado para a casca seca e para a polpa liofilizada estão apresentados na Tabela 3. Valores de referências para estas, não foram encontradas na literatura.

Tabela 3: Porcentagem de cinzas para a casca seca e para a polpa *in natura* e liofilizada

Parte da fruta		Cinzas/g%
Casca seca		13,4 ± 0,1
Polpa	<i>In natura</i>	0,65 ± 0,04
	Liofilizada	3,4 ± 0,1

A liofilização concentrou o teor de cinzas da polpa em aproximadamente cinco vezes. Mello (2014) encontrou teor de 0,06 g% para a polpa *in natura* também cedida pela Embrapa Cerrados, aproximadamente 11 vezes menor do que o teor encontrado neste trabalho. Oliveira et al. (2010) e Duarte et al. (2013) encontraram teores de 0,39 g% e 0,13 g%, dois e cinco vezes menores. Os mesmos autores encontraram teor de 0,08 g% e 0,11 g%, respectivamente, para a casca *in natura*, valores aproximadamente 100 vezes menores do que ao encontrado neste trabalho.

Alguns dos minerais encontrados na *H. undatus* são cálcio, manganês, magnésio, zinco, cobre e ferro (DUARTE, 2013), os resultados encontrados neste trabalho supõe riqueza de minerais na fruta.

6.1.3 Determinação do teor de sólidos solúveis totais (SST)

O teor de sólidos pode ser influenciado pelo grau de maturação da fruta e pelo período de armazenamento após a colheita: quanto maior o grau de maturação, maior a porcentagem de sólidos solúveis presentes, devido à biossíntese de açúcares, à degradação de polissacarídeos ou à conversão dos ácidos em açúcar (MEYER et al., 1982), e quanto maior o período de armazenamento, menor o teor de sólidos solúveis (TENORE et al., 2012), resultado da senescência da fruta (MEYER et al., 1982).

O teor de sólidos solúveis totais encontrado para os extratos aquoso, cetônico e etanólico da casca seca e para a polpa *in natura* e liofilizada pode ser visto na Tabela 4:

Tabela 4: Teor de SST para os extratos cetônico e etanólico da casca seca

		SST/(°Brix)
Casca seca	Extrato aquoso	0,40 ± 0,00
	Extrato cetônico bruto	1,45 ± 0,01
	Extrato etanólico bruto	2,32 ± 0,01
Polpa	<i>In natura</i>	12,4 ± 0,2
	Liofilizada	82,8 ± 0,8

Para a polpa *in natura* Fernandes et al. (2017) encontraram (12,63 ± 0,43)°Brix, Abreu et al. (2012) encontraram (10,83 ± 0,40)°Brix. Para o extrato aquoso da casca *in natura*, Abdullah e Abdullah (2011) encontraram o valor de 0,60 °Brix. Estes valores de referência são semelhantes aos encontrados neste trabalho. Não foram encontrados na literatura valores para os extratos cetônico e etanólico brutos e nem para o extrato aquoso da casca seca, porém, sabe-se que maiores teores de sólidos solúveis são encontrados na polpa da *Hylocereus undatus* (HALIMOON e HASAN, 2010; MOREIRA et al., 2013; MEYER et al., 1982; PAULA et al., 2014).

6.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

6.2.1 Avaliação da atividade antioxidante dos extratos de *H.undatus* pela redução do radical DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazina)

Para a análise da CE₅₀, os gráficos da AA por sua respectiva concentração (µg/mL) foram construídos com os pontos que mais se aproximaram de um coeficiente de correlação linear (R²) igual a 1,00000. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5 e nos gráficos das Figuras 13, 14 e 15.

Tabela 5: Dados da atividade antioxidante (DPPH) para a casca seca

Extrato	Fração	CE ₅₀ /(µg/mL)	y = a + b·x	R ²
Cetônico	acetato	130,98	-21 + 3,03·x	0,99963
	clorofórmio	125,35	26,6 + 0,187·x	0,99864
	hexano	732,71	2,5 + 0,5·x	0,99746
Etanólico	bruto	532,12	12,3 + 0,071·x	0,99953
	aquosa	856,62	0,4 + 0,061·x	0,99718
Hidroetanólico	bruto	1322,40	0,8 + 0,037·x	0,99775
Padrão ácido ascórbico	-	4,92	-15 + 13,3·x	0,98781
Padrão rutina	-	6,16	4 + 7,5·x	0,99292

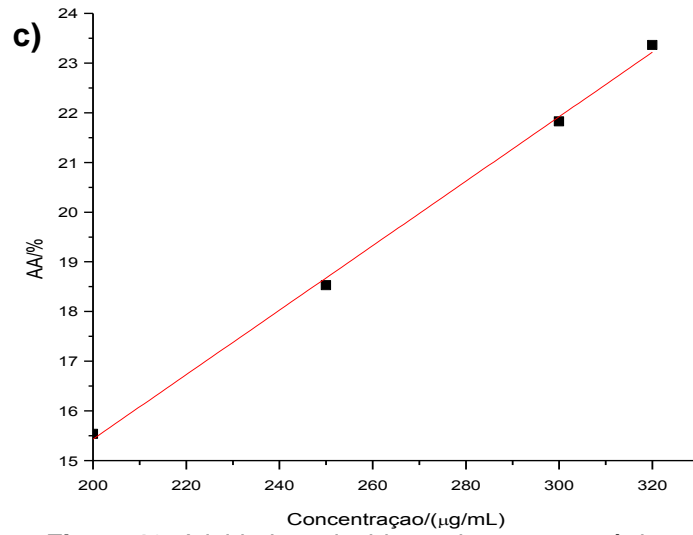
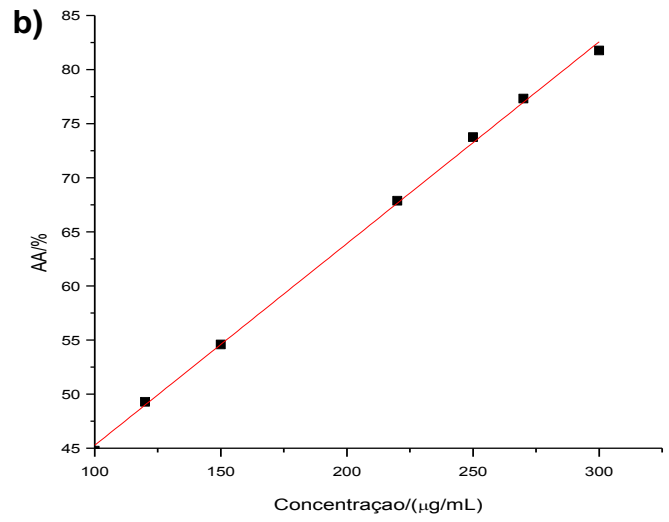
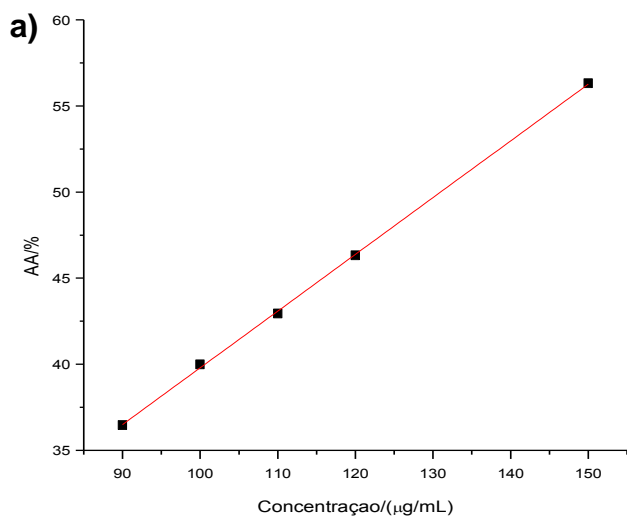
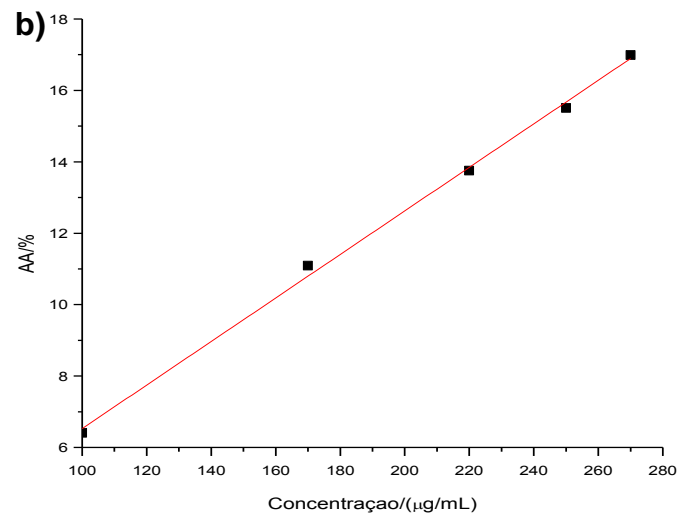
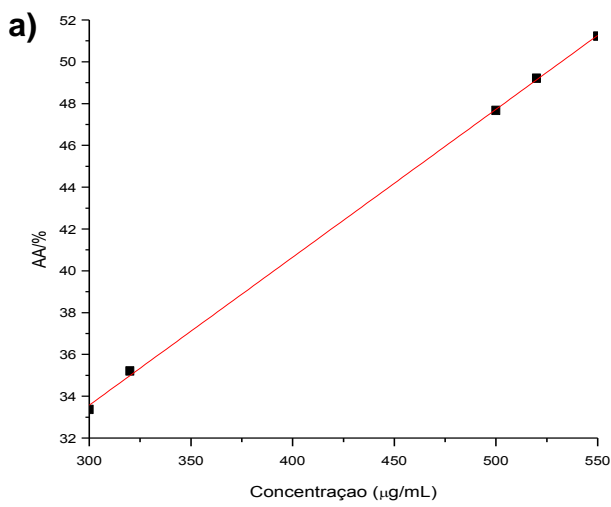


Figura 13: Atividade antioxidante do extrato cetônico:
a) fração acetato **b)** fração clorofórmio **c)** fração hexano



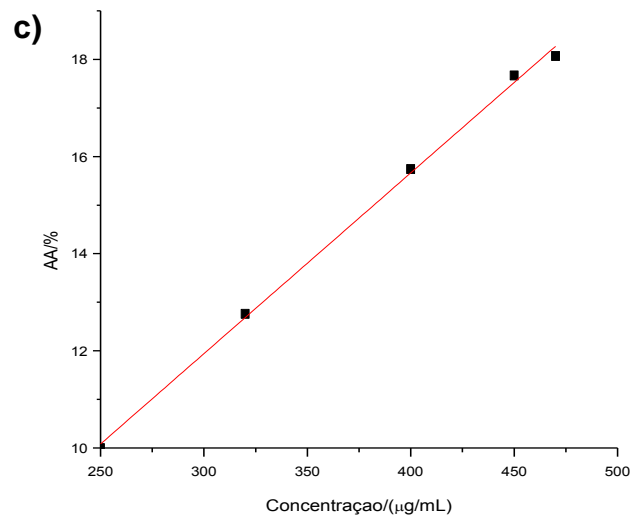


Figura 14: Atividade antioxidante do extrato etanólico: a) bruto b) fração etanólica/aquosa c) hidroetanólico

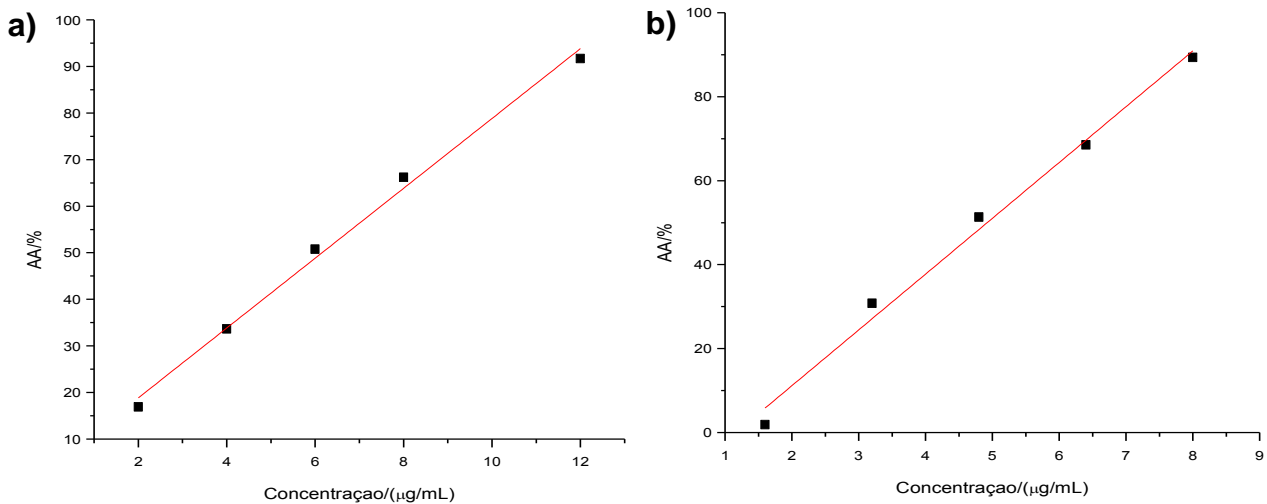


Figura 15: Atividade antioxidante dos padrões a) rutina b) ácido ascórbico.

Não foram encontrados na literatura valores de referência para a atividade antioxidante dos extratos da casca seca da *H. undatus*. Porém, em geral, nota-se que a CE_{50} dos extratos é muito maior que a CE_{50} dos padrões nas faixas de concentrações utilizadas neste trabalho, o que indica que por este método os extratos possuem baixa atividade antioxidante.

Com relação ao extrato cetônico, analisando os dados da Tabela 5, supõe-se que os compostos ativos mais antioxidantes são mais polares, pois quanto maior a polaridade da fração analisada (hexano < clorofórmio < acetato), tendencialmente houve queda da CE_{50} (732,71, 125,35 e 130,98) µL/mL respectivamente. Já no extrato etanólico, quanto maior a polaridade (etanólico bruto < etanólico/aquoso <

hidroetanólico) maior a CE_{50} , (532,12 < 856,62 < 1322,40) indicando que os compostos mais antioxidantes são de baixa polaridade.

Baixos valores de atividade antioxidante para o método DPPH também são encontrados na literatura (ABREU et al., 2012; LIM et al., 2007) devido ao baixo teor de ácido ascórbico e fenólicos totais (LIM et al., 2007). O teor de fenólicos totais também foi encontrado em baixa concentração por Halimoon e Hasan (2010). Os autores também mostram que a atividade antioxidante da *Hylocereus undatus* pelo método DPPH se mostrou muito mais baixa em metanol, do que em etanol e água, indicando assim influência do solvente na capacidade antioxidante. Por outro método, o betacaroteno/ácido linoleico, a *Hylocereus undatus* apresentou alta atividade antioxidante (ABREU et al., 2012). Também as frações do extrato hidrometanólico de *Hylocereus polyrhizus* obtidos por Tenore et al. (2012), quando comparadas ao extrato bruto, apresentaram grande aumento da CE_{50} , assim como o resultado obtido neste trabalho.

Existem pelo menos quatro fontes gerais de antioxidantes: enzimas, grandes moléculas como algumas proteínas, pequenas moléculas como o ácido ascórbico e alguns hormônios. Os antioxidantes possuem diferentes características químicas e físicas, podendo cada um responder de uma forma diferente para diferentes fontes de radicais ou oxidantes e atuar por múltiplos mecanismos num único sistema ou por um único mecanismo diferente, dependendo do sistema de reação. Portanto, devido às diferentes características de reação e mecanismos envolvidos, nenhum ensaio reflete precisamente todos os antioxidantes ou fontes de radicais num sistema misto ou complexo (PRIOR et al., 2005). Considera-se também que para avaliação da atividade antioxidante de extratos alimentares, devem ser aplicados pelo menos dois métodos distintos a fim de estabelecer sua autenticidade (SCHLESIER et al., 2002), devendo ser realizado o teste por outro método para a conclusão do real poder antioxidante da casca de *H.undatus*.

6.2.2 Avaliação da toxicidade dos extratos de *H.undatus* frente à *Artemia salina*

Para uma amostra ser tóxica frente à *Artemia salina*, é necessário apresentar valor de DL_{50} inferior a 1000 $\mu\text{g/mL}$ (MEYER et al., 1982), portanto, como mostram os

resultados expressos na Tabela 6, nenhum dos extratos testados apresentou efeito tóxico, pois o DL₅₀ para todos foi superior a 1000 µg/mL.

Tabela 6: Toxicidade frente à *Artemia salina*

Extrato	Fração	Mortalidade			DL ₅₀ /(µg/mL)
		Concentração/(µg/mL)			
		10	100	1000	
Cetônico	acetato	1	1	1	>1000
	clorofórmio	1	0	4	>1000
	hexano	1	0	4	>1000
Etanólico	bruto	1	1	1	>1000
	aquosa	1	1	1	>1000
Hidroetanólico	bruto	1	0	1	>1000

Não foram encontrados na literatura outros trabalhos referentes à toxicidade da *H.undatus*. Estudos *in vivo* realizados com extrato metanólico de *Hylocereus polyrhizus*, avaliando toxicidade aguda e crônica não identificou efeito tóxico do extrato, pois durante o período do estudo, não ocorreram mortes dos animais (ratos), diferença significativas no peso corporal e dos órgãos ou anormalidade destes (HOR et al., 2012). Para as folhas de *Pereskia aculeata* Mill da família *Cactaceae*, analisadas pelo mesmo método deste presente trabalho (MEYER et al., 1982), as frações acetato de etila do extrato bruto cetônico e clorofórmio do extrato bruto alcoólico foram consideradas moderadamente tóxicas (TRENNEPOHL, 2016).

6.2.3 Avaliação da atividade hemolítica *in vitro* dos extratos de *H.undatus*

Os extratos etanólico: bruto (ET), hidretanólico (HA) e etanólico/aquoso (ETA), promoveram baixa porcentagem de hemólise, como mostram os dados na Tabela 7, sendo tal porcentagem nula (ou não significativa) estatisticamente quando comparada ao controle negativo, como mostra a Figura 16. O mesmo pode ser observado nas frações do extrato cetônico: hexano (CH) na concentração de 125 µg/mL, clorofórmio (CC) e acetato de etila (CAC) nas concentrações de 125 µg/mL e 250 µg/mL.

Tabela 7: Hemólise dos extratos brutos e particionados de *H.undatus*

Extrato	Fração	Concentração /($\mu\text{g/mL}$)	Hemólise/(%)
Cetônico	acetato	125	1,60
		250	1,58
		500	23,41
		1000	71,07
	clorofórmio	125	2,33
		250	5,26
		500	46,63
		1000	77,72
	hexano	125	4,82
		250	11,93
		500	44,44
		1000	121,00
Etanólico	bruto	125	1,19
		250	1,05
		500	1,30
		1000	1,88
	aquosa*	125	1,50
		250	1,52
		500	2,41
		1000	4,27
Hidroetanólico	125	1,08	
	250	2,05	
	500	2,91	
	1000	2,63	

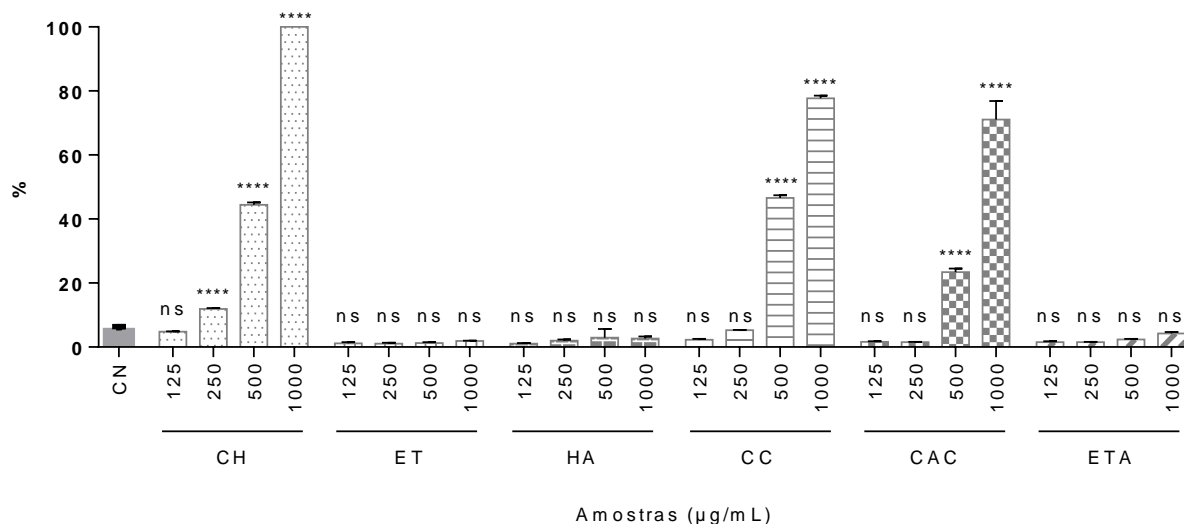


Figura 16: Porcentagem de hemólise ocorrida em cada extrato nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ em comparação ao controle negativo. ns: não significativo; nível de significância **** $p < 0,0001$ quando comparado ao controle negativo.

Todas as frações cetônicas promoveram hemólise, majoritariamente na concentração de 1000 µg/mL, estatisticamente de 80% a 100% mais do que o controle negativo. Não foram encontrados na literatura dados referentes à atividade hemolítica da casca de *H.undatus*. Sabe-se que substâncias mais apolares permeiam a membrana plasmática com maior facilidade (ALMEIDA et al., 2014), o que justificaria as maiores porcentagens de hemólise ocorridas, em ordem decrescente, nas frações hexano, clorofórmio e acetato de etila. Algumas classes de compostos, como os compostos fenólicos e as saponinas, também são capazes de promover hemólise (CAVALHEIRO et al., 2009). Mello (2014) detectou a presença de compostos fenólicos na casca e mesocarpo da *H.undatus* também cedida pela Embrapa Cerrados, podendo ser considerada alta concentração quando comparada ao mamão, por exemplo. A autora afirma que a detecção destes compostos deve-se, entre outros fatores, à estrutura fenólica das betalaínas, presentes nestas partes das frutas.

Para a polpa *in natura* de *H.undatus*, Filho (2010) encontrou 99,3% de hemólise induzida por ácido hipocloroso. No método, o meio reacional, a concentração de eritrócitos, e o comprimento de onda da leitura diferiram do presente trabalho. Trennepohl (2016) utilizou o mesmo método no estudo das folhas de *Pereskia aculeata* Mill da família *Cactaceae*, conhecida popularmente como "ora-pro-nobis", as concentrações utilizadas foram de 100, 200, 500 e 1000 µg/mL para os extratos brutos – cetônico e etanólico – e suas respectivas frações – acetato de etila, clorofórmio, hexânico. Para o extrato etanólico e suas frações, em todas as concentrações ocorreu hemólise, para o extrato cetônico o resultado se repetiu, com exceção da fração acetato de etila nas concentrações 100 µg/mL e 200 µg/mL e clorofórmio 100 µg/mL. Assim como os resultados encontrados para a casca seca da *H.undatus*, a maior porcentagem de hemólise foi observada no extrato cetônico/hexânico na concentração de 1000 µg/mL.

6.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO FIXO DA SEMENTE

Em uma extração sólido-líquido, a granulometria do sólido é um dos fatores que influenciam na taxa de extração e por consequência, no rendimento final de líquido extraído. Sabe-se que, quanto menor o tamanho da partícula, maior a área superficial

específica, e maior a taxa de extração realizada pelo solvente. As sementes secas de *H.undatus* (120,10 g) não foram moídas antes da extração com hexano, e renderam 14,824 mL de óleo fixo (Figura 17), resultando em 12,34% de rendimento.



Figura 17: Óleo fixo de *H.undatus*

Ariffin et al. (2008), secando as semente, moendo, e realizando a extração com éter de petróleo, obtiveram $(32,0 \pm 1,4)\%$ de rendimento. A análise do óleo por CG feita pelos autores identificou como principais ácidos graxos: palmítico, esteárico, oleico, linolênico e predominantemente ácido linoleico em sua composição. Considerou-se o óleo rico neste ácido, se comparado ao óleo de semente de uva, de canola e de linhaça. Tan et al. (2009) utilizando o mesmo método de extração, obteve 28,37% de rendimento, com os mesmo ácidos graxos principais, e o linoleico predominantemente. Os autores compararam a insaturação dos ácidos graxos da *H.undatus* por eles encontrados (82,01%) à do óleo de soja (84,6%). Chemah et al. (2010) obtiveram $(27,5 \pm 1,0)\%$ de rendimento, $(46,3 \pm 1,1)\%$ de carboidratos, $(23,1 \pm 0,1)\%$ de proteínas e $(3,1 \pm 0,1)\%$ de cinzas.

6.4 FORMULAÇÃO DO BRILHO e BÁLSAMO LABIAL

Ao longo de seis dias foram avaliadas algumas características sensoriais das duas fórmulas manipuladas, a cor, o aspecto e a duração dos produtos nos lábios. A coloração foi analisada visualmente, e registrada em fotografias, como mostra a Figura 18. No dia seguinte à formulação dos produtos já foram observadas mudanças. O brilho labial ao longo de seis dias sofreu alteração em sua cor, indo de vermelho-rosado para vermelho e a duração quando aplicado nos lábios diminuiu, o aspecto líquido, porém, permaneceu. O bálsamo labial ao longo dos seis dias permaneceu com a mesma duração nos lábios mas houve alteração de cor, indo de rosa claro para rosa levemente alaranjado, o aspecto sólido sem grumos, permaneceu.

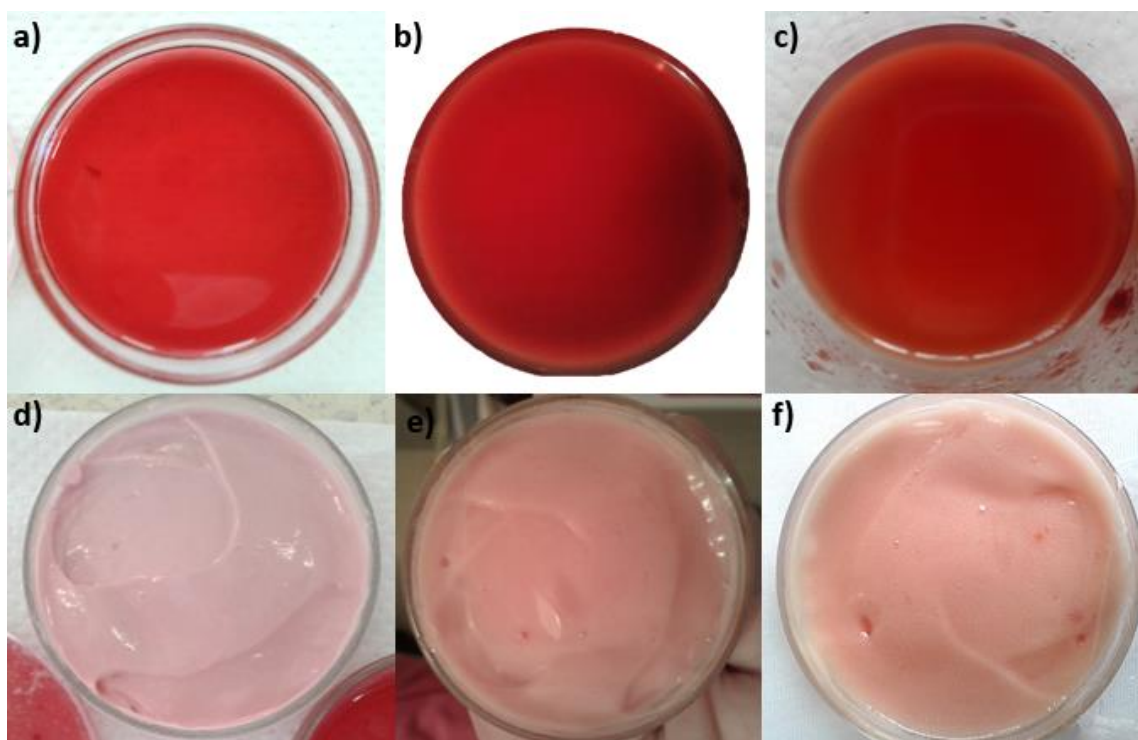


Figura 18: Brilho e bálsamo labial com betacianina de *H.undatus*

- a)** Brilho labial após ser formulado;
- b)** Dois dias após formulação; **c)** Cinco dias após a formulação;
- d)** Bálsamo labial após ser formulado;
- e)** Dois dias após formulação; **f)** Cinco dias após a formulação.

No sexto dia pós formulação, o pH medido foi de 9,05 para o brilho e 8,52 para o bálsamo, porém betacianina apresenta maior estabilidade na faixa de pH de 3 a 7 (WOO et al., 2011). Mello (2014) estudou a estabilidade da betacianina de *H.undatus*, também cedida pela Embrapa Cerrados, utilizando espectroscopia de varredura (280 nm a 780 nm), e a aplicou em gelatina e iogurte. A faixa de estabilidade de pH

encontrada pela autora foi de 3,2 a 7,0. Observando os picos da varredura (Figura 19), a autora observou redução drástica em 424 nm, pico característico da betanina, em meios ácido e fracamente alcalino (pH 2,4 e 8,0, respectivamente) e o aumento da absorvância do pico em 526 nm e pH 8,0, característico do ácido betalâmico, que possui coloração laranja/amarelada.

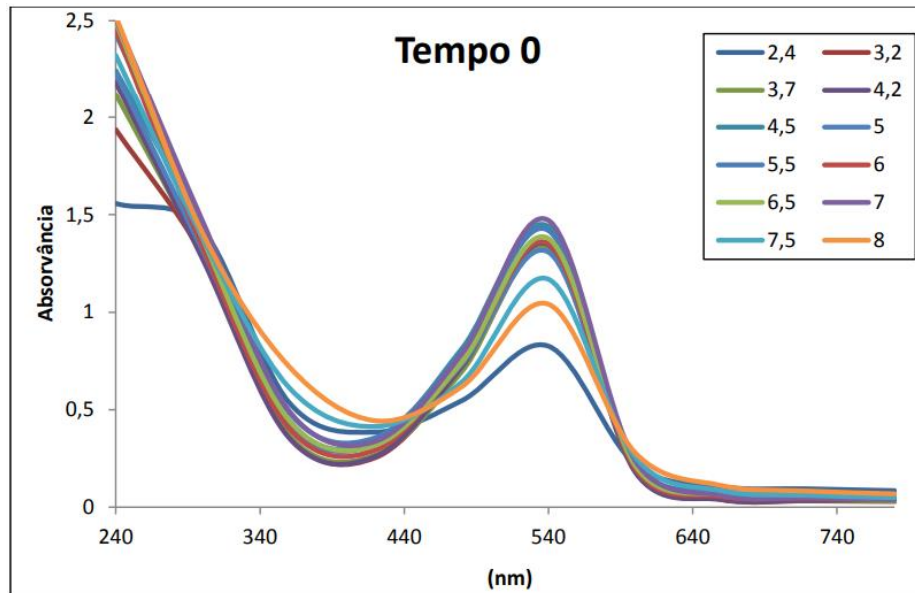


Figura 19: Espectro de absorção da betalaína em diferentes pHs
*FONTE: MELLO (2014)

A autora ainda submeteu as amostras com diferentes pHs ao aquecimento (100 °C) por 10 minutos. Apesar das formulações realizadas neste trabalho não terem sido aquecidas, a degradação ocorrida nestas teve variação de cores semelhantes à da autora, como mostra a Figura 20.

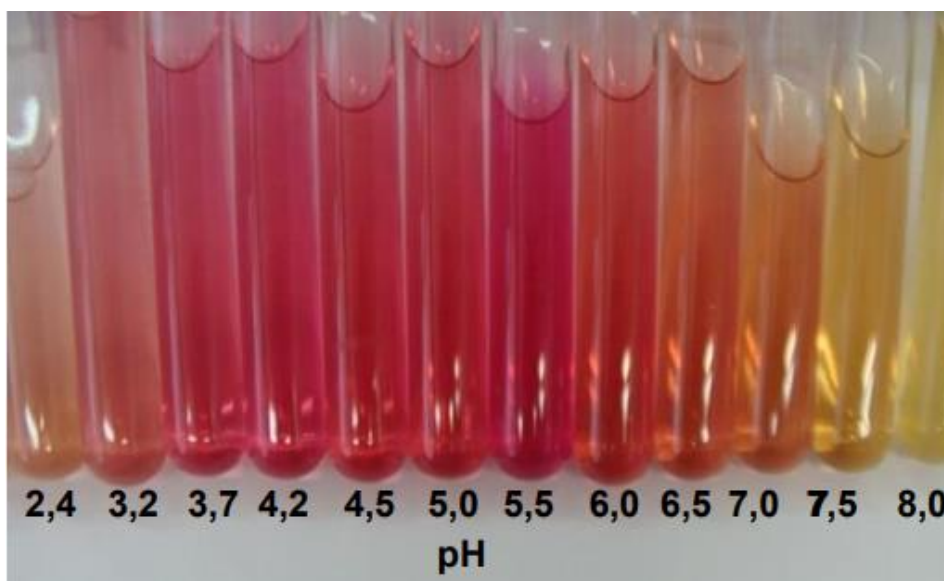


Figura 20: Degradação da cor das betacianinas da pitaya em diferentes pHs e com dez minutos de exposição a 100 °C.
*Fonte: MELLO (2014)

Acredita-se que a alteração de cor da betalaína está ligada à mudança de pH do meio. Com o aumento do pH, a betacianina é alterada para betaxantina, esta mudança é comprovada pela coloração laranja/amarela nas formulações ao longo dos dias. Uma alternativa seria adicionar à formulação um conservante ácido. O etilenodiaminotetrácido (EDTA) dissódico é um agente quelante, utilizado em formulações tópicas nas concentrações de 0,005% e 0,1% m/v. Por formar complexos solúveis em água com metais alcalinos terrosos e íons de metais pesados, que catalisam reações de oxidação, tornando-os indisponíveis no meio, pode ser utilizado como antioxidante. A estabilidade dos complexos formados se encontra na faixa de pH de 4,0 a 6,0 (HANDBOOK, 2009). O ácido cítrico também é utilizado como antioxidante na concentração de 0,01% a 0,1% m/v em formulações farmacêuticas aquosas em uma faixa de pH mais ácida, de 2,1 a 2,6 (HANDBOOK, 2009). Os dois conservantes serão testados separadamente nas formulações, posteriormente, na próxima etapa do trabalho.

7. CONCLUSÃO

Nas análises físico-químicas da *Hylocereus undatus*, para o teor de umidade, verificou-se que a liofilização da polpa o reduziu em aproximadamente sete vezes, já a secagem da casca em estufa reduziu o teor em aproximadamente nove vezes, quando comparado à literatura. O teor de cinzas encontrado para a casca seca e para a polpa liofilizada supôs riqueza de minerais na fruta. Os valores de referência na literatura para o teor de sólidos solúveis totais encontrados para a polpa *in natura* e para o extrato aquoso da casca foram semelhantes aos encontrados neste trabalho. Não foram encontrados valores para os extratos cetônico e etanólico brutos e nem para o extrato aquoso da casca seca.

Nas análises biológicas, no estudo da casca seca de *Hylocereus undatus*, a atividade antioxidante pelo método DPPH, tanto para os extratos brutos como para as frações, apresentou-se baixa. Os extratos cetônicos apresentaram maior atividade antioxidante que os etanólicos. Alguns autores, empregando outros métodos de determinação de atividade antioxidante, encontraram valores superiores. Nenhum dos extratos apresentou toxicidade quando submetidos ao

teste *in vitro*, resultado semelhante foi encontrado na literatura para a polpa sob teste *in vivo*. A atividade hemolítica dos extratos etanólicos foi nula, já as frações dos extratos cetônicos, apresentaram atividade hemolítica nas concentrações de 500 µg/mL e 1000 µg/mL, este resultado pode ter influência da polaridade dos solventes.

A extração do óleo fixo da semente seca por Soxhlet teve rendimento de 12,34%, aproximadamente 50% abaixo do valor encontrado na literatura, provavelmente devido ao fato das sementes não terem sido moídas.

O brilho e o bálsamo labial formulados tiveram alteração de cor durante todos os dias pós formulação, de rosa forte e rosa claro, respectivamente, para vermelho-laranja e rosa levemente laranja. A degradação da betacianina para ácido betalâmico devido a mudança de pH do meio foi atribuída como hipótese para o ocorrido.

REFERÊNCIAS

ABREU, W.C.; LOPES, C.O.; PINTO, K.M.; OLIVEIRA, L.A.; CARVALHO, G.B.M.; BARCELOS, M.F.P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 4, p. 656-661, 2012.

ABURJAI, T.; NATSHEH, FEDA M. Plants used in cosmetics. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 987-1000, 2003.

ADNAN, L.; OSMAN, A.; HAMID, A.A. Antioxidant activity of different extracts of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed. **International Journal of Food Properties**, v. 14, p. 1171-1181, 2011.

ALLAM, K.V.; KUMAR, G.P. Colorants - the cosmetics for the pharmaceutical dosage forms. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 3, p. 13-21, 2011.

ALMEIDA, M. E. F.; JUNQUEIRA, A.M.B.; SIMÃO, A.A.; CORRÊA, A.D. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como *ora-pro-nobis*. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 431-439, 2014.

ALVARENGA, T.C.; NETO, H.F.S.; OGASSAVARA, F.O.; ARANTES, F.C.; MARQUES, M.O.; FRIGIERI, M.C. Polifenoloxidase: uma enzima intrigante. **Ciência & Tecnologia: FATEC-JB**, v. 3, n. 1, p. 83-93, 2011.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**, 16^a ed., 3^a rev., v. 2, cap. 32, p.1-43, 1997.

ARIFFIN, A.A.; BAKAR, J.; TAN, C.P.; RAHMAN, R.A.; KARIM, R.; LOI, C.C. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food chemistry**, v. 114, p. 561-564, 2009.

AZEREDO, H.M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability - a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2365-2376, 2009.

BANERJEE, A.; KUNWARB, A.; MISHRAB, B.; PRIYADARSINIB, K.I. Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. **Chemico-Biological Interactions**, v. 174, p. 134-139, 2008.

CARVALHO, A.B. et al. Desenvolvimento de Gloss Labial. **Cosmetics & toiletries (Brasil)**, v. 23, p. 66, 2011.

CARVALHO, E.B.; BORGES, E.L.; CARLOS, L.M.B.; SILVA, M.A.M.; MAGALHÃES, S.M.M.; GOMES, F.V.B.A.F.; CARVALHO, M.J.C.; QUIXADÁ, A.T.S.; PITOMBEIRA, M.H.S. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 149-152, 2007.

CARVALHO, J.L.S.; CUNICO, M.M.; DIAS, J.F.G.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Termoestabilidade de processos extrativos de *Nasturtium officinale* R. Br., brassicaceae por sistema soxhlet modificado. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1031-1035, 2009.

CAVALHEIRO, M.G.; FARIAS, D.F.; FERNANDES, G.S.; NUNES, E.P.; CAVALCANTI, F.S.; VASCONCELOS, I.M.; MELO, V.M.M.; CARVALHO, A.F.U. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 586-591, 2009.

CHEMAH, T.C.; AMINAH, A.; NORIHAM, A.; WAN AIDA, W.M. Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. **International Food Research Journal**, v. 17, p. 1003-1010, 2010.

CHET, N.G. **Total phenolic and total flavonoids content of pitaya peels by water extraction**. 90 f. 2009. Tese (Bacharelado em Engenharia Química). University Malaysia Pahang, Malaysia, 2009.

CUNNANE, S.; ANDERSON, M. Pure linoleate deficiency in the rat: influence on growth, accumulation of n-6 polyunsaturates, and (1–14c) linoleate oxidation. **Journal of Lipid Research**, v. 38, n. 4, p. 805–812, 1997.

DAWSON, T.L. Biosynthesis and synthesis of natural colours. **Coloration Technology**, v. 125, p. 61-73, 2009.

DONADIO, L.C. Pitaya. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 637-929, 2009.

DU, Z.; BRAMLAGE, W.J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 1566-1570, 1992.

DUARTE, M.H. **Armazenamento e qualidade de pitaia [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] submetida à adubação orgânica**. 2013. 118 f. Tese (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

EE, S.C.; JAMILAH. B.; MUHAMMAD, K.; HASHIM, D.M.; ADZAHAN, N. Physico-chemical properties of spray-dried red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel powder during storage. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 1, p. 155-160, 2014.

ESQUIVEL, P.; STINTZING, F.C.; CARLE, R. Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. Genotypes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, p. 451-457, 2007.

FERNANDES, L.M.S.; VIEITES, R.L.; LIMA, G.P.P.; BRAGA, C.L.; DO AMARAL, J.L. Caracterização do fruto de pitaia orgânica. **Biodiversidade**, v. 16, n. 1, p. 167-178, 2017.

FILHO, J.M. **Estudo da atividade antioxidante de frutas tropicais exóticas sobre espécies reativas de oxigênio de importância biológica em ensaios modelos**. 129f. 2010. Tese (Mestrado em Bioquímica). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

FREITAS, S.T.; MITCHAM, E.J. Quality of pitaya fruit (*Hylocereus undatus*) as influenced by storage temperature and packaging. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 257-262, 2013.

GENGATHARAN, A.; DYKES, G.A.; CHOO, W.S. Betalains: natural plant pigments with potential application in functional foods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 645-649, 2015.

GIROTTO, D.; SANTA MARIA, L.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S.C.; POMBLUM, V.J.; ROCHA, J.B.T.; FARIN, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2009.

GUNASENA, H.P.M.; PUSHPAKUMARA, D.K.N.G.; KARIYAWASAM, M. Dragon fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. **World Agroforestry Centre, South Asia Office: India**, p. 110-142, 2007.

HALIMOON, N.; HASAN, M.H.A. Determination and evaluation of antioxidative activity in red dragon fruit (*Hylocereus undatus*) and green kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). **American Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 11, p. 1432-1438, 2010.

HENNEBERG, R. **Estudo do efeito antioxidante de polifenóis em eritrócitos de pacientes de hemoglobina S**. 2013. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

HERBACH, K.M.; MAIER, C.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. **European Food Research and Technology**, v. 224, p. 649-658, 2007.

HOR, S.Y.; AHMAD, M.; FARSI, E.; YAM, M.F.; HASHIM, M.A.; LIM, C.P.; SADIKUN, A.; ASMAWI, M.Z. Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, n. 63, p. 106–114, 2012.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 5509: animal and vegetable fats and oils: preparation of methyl esters of fatty acids**. London: International Organization for Standardization, 1978.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalain. In: **Natural Food Colorants**, 2^a ed. HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, J.D. Scotland: Blackie & Son Glasgow, 1996.

JUNQUEIRA, K.P.; JUNQUEIRA, N.T.V.; RAMOS, J.D.; PEREIRA, A.V. Informações preliminares sobre uma espécie de pitaya do cerrado. **Embrapa**, Documentos 62, 1^a edição, 2002. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/publicacoes/search_pbl/1?q=Pitaya>. Acesso em: 28/01/2015.

KISHIDA, E; KAMURA, A.; TOKUMARU, S.; ORIBE, M.; IGUCHI, H.; KOJO, S. Re-valuation of malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactive substances as indices of autoxidation bases on the oxygen consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 1, 1993.

KHALILI, R.M.A.; ABDULLAH, A.B.C.; MANAF, A.A. Isolation and characterization of oligosaccharides composition in organically grown red pitaya, white pitaya and papaya. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, 2014.

LIM, Y.Y.; LIM, T.T.; TEE, J.J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1003 -1008, 2007.

LIMA, C.A.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; COHEN, K.O.; GUIMARÃES, T.G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 565-570, 2013.

MELLO, F.R. **Avaliação das características físico-químicas e atividade antioxidante da pitaya e determinação do potencial do mesocarpo como corante natural para alimentos**. 2014. 102 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.; LEITÃO, G.; REIS, A.; DOS SANTOS, T.C.; COUBE, C.; LEITÃO, S.G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MEYER, B.N.; FERRIGNI N.R.; PUTNAM J.E.; JACOBSEN L.B.; NICHOLS, D.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N.K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH• assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, v. 130, p. 1036-1043, 2012.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MORAIS, S. M.M.; JÚNIOR, F.E.A.C.; SILVA, A.R.A.; NETO, J.S.M. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de Croton do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

MOREIRA, W.A.S.; LIMA, M.P.; MACARI, P.A.T.; CARVALHO, L.E. Variação no tempo de eclosão dos cistos de *Artemia salina* e teste de toxicidade dos constituintes de *Spathelia excelsa*. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 9, n. 3, p. 1-6, 2013.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação**. 13ª ed. São Paulo: Ed. Blucher, 2005.

NILSON, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). **Lantbrukhogskolans Annaler**, v. 36, p. 179-219, 1970.

NUNES, E.N.; SOUSA, A.S.B.; LUCENA, C.M.; SILVA, S.M.; LUCENA, R.F.P.; ALVES, C.A.B.; ALVES, R.E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): Uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 90-98, 2014.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, 2015.

OLIVEIRA, L.A.; DE ABREU, W.C.; OLIVEIRA, C.; PINTO, K.M.; DE CARVALHO, G.B.M.; BARCELOS, M.F.P. **Composição química da pitaia vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) e branca (*Hylocereus undatus*)**. In: XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 2010. Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/lavras/resumos/1180.pdf>>.

OLIVEIRA, O.W.; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010.

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; VERDAM, M.C.S.; KALEGARI, M.; CAMPOS, R.; HIROTA, B.C.K.; MIGUEL, O.G.M.; MIGUEL, M.D. Atividade antioxidante e toxicidade

preliminar do extrato e frações obtidas das folhas e cascas do caule de *Dasyphyllum tomentosum* (Spreng.) Cabrera. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 189-195, 2014.

PETROBRAS. PETROBRÁS N-2588: Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemia sp.* **CONTEC - Comissão de normas técnicas**, 1996.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, p. 4290–4302, 2005.

RAMÍREZ, C.; ESQUIVEL, P.; CARLE, R. **Pitaya fruit processing as economic opportunity for central-american farmers and industry**. 2009. Disponível em: <https://www.uni-hohenheim.de/fileadmin/einrichtungen/troz/Documents/Research_documents/Pitaya_project_description.pdf>. Acesso em 28/01/2015.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6th ed. Graylask: Pharmaceutical Press and Washington: American Pharmacists Association, 2009.

RUI, H.; ZHANGA, L.; LIB, Z.; PAN, Y. Extraction and characteristics of seed kernel oil from white pitaya. **Journal of Food Engineering**, v. 93, p. 482–486, 2009.

RYMBAI, H.; SHARMA, R.R.; SRIVASTAV, M. Biocolorants and its implications in Health and Food Industry - A Review. **International Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 4, p. 2228-2244, 2011.

SANTOS, M.H.; BATISTA, B.L.; DUARTE, S.M.S.; DE ABREU, C.M.P. GOUVÊA, C.M.C.P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.

SCHLESIER, K.; HARWAT, M.; BOHM, V.; BITSCH, R. Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. **Free Radical Research**, v.36, n. 2, p. 177-187, 2002.

SETAPAR, S.H.M.; PENG, W.L.; KHANAFI, M.A.; IDHAM, Z.; YUNUS, M.A.C.; ZAINI, M.A.A. Development of emulsification containing natural colorant from local plant (Roselle). **Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)**, v. 69, n. 4, p. 15-17, 2014.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SIVA, R.; ANANTHARAMAN, A.; SUBRAMANIAN, B.; CHANDRASEKARAN, R.; SEENIVASAN, R. Colorants and cancer: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 167-186, 2014.

SOUSA, C.M.M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C; DA COSTA, C.S.L.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

STINTZING, F.C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. **Food Chemistry**, v. 77, p. 101-106, 2002.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, p. 247-269, 2003.

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

TZE, N.G.; HAN, C.P.; YUSOF, Y.A.; LING, C.N.; TALIB, R.A.; TAIP, F.S.; AZIZ, M.G. Physicochemical and nutritional properties of spray-dried pitaya fruit powder as natural colorant. **Food Science biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 675-682, 2012.

VAILLANT, F.; PEREZ, A.; DAVILA, I.; DORNIER, M.; REYNE, M. Colorant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus sp.*). **Fruits**, v. 60, p. 3-12, 2005.

VILLALOBOS-GUTIERREZ, M.G.; SCHWEIGGERT, R.M.; CARLE, R.; ESQUIVEL, P. Chemical characterization of central american pitaya (*Hylocereus sp.*) seeds and seed oil. **CyTA – Journal of Food**, v. 10, n. 1, p. 78-83, 2012.

WOO, K.K.; NGOU, F.H.; NGO, L.S.; SOONG W.K.; TANG, P.Y. Stability of betalain pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). **American Journal of Food Technology**, v. 6, p. 140-148, 2011.

WYBRANIEC, S.; MIZRAH, Y. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus* Cacti. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, 2002.

WU, L.; HSU, H.W.; CHEN, Y.C.; CHIU, C.C.; LIN, Y.I.; HO, J.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, p. 319-327, 2006.