



**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS QUÍMICOS E
BIOTECNOLÓGICOS**

JOÃO DINIZ ESGOTE JUNIOR

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
DIFERENTES ESPÉCIES DE PITAIAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**TOLEDO
2017**

JOÃO DINIZ ESGOTE JUNIOR

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
DIFERENTES ESPÉCIES DE PITAIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos.

Orientador(a): Ricardo Fiori Zara

Co-orientador(a): Eder Lisandro de Moraes Flores

**TOLEDO
2017**

Ficha catalográfica elaborada na Biblioteca UTFPR / Toledo

E75c Esgote Junior, João Diniz
Composição química e atividade antioxidante de diferentes espécies de pitaias / João Diniz Esgote Junior; orientador: Ricardo Fiori Zara; co-orientador: Eder Lisandro de Moraes Flores. Toledo, PR : UTFPR, 2017.
62 f.: il.; 30 cm.

Texto em português, com resumo em inglês.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos, Toledo, 2017.

Bibliografia: f. 55-62

1. Ácido ascórbico. 2. Antioxidantes. 3. Flavonóides.
I.Zara, Ricardo Fiori. II.Flores, Eder Lisandro de Moraes. III.Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos. IV. Título.

CDD: Ed. 22 -- 660.6



TERMO DE APROVAÇÃO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES ESPÉCIES DE PITAIAS

Por

JOÃO DINIZ ESGOTE JUNIOR

Essa dissertação foi apresentada às 14 horas do dia onze de maio de dois mil e dezessete, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos, Linha de Pesquisa Processos Biotecnológicos, no Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos – PPGQB, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara (Orientador – PPGQB)

Prof. Dr. Clayton Antunes Martin (Membro Interno – PPGQB)

Prof^a Dr^a Marcela Boroski (Membro Externo – UNILA)

****A versão assinada encontra-se arquivada na Coordenação do PPGQB***

AGRADECIMENTOS

Sem dúvidas as palavras não seriam suficientes para expressar todos os meus sentimentos e a todas as pessoas que merecem esse agradecimento. Com toda a certeza do mundo sou eternamente grato pelos lembrados e não lembrados nesse momento.

Primeiramente agradeço a Deus pela força, resiliência, saúde, calma e oportunidade de chegar até aqui. E junto a Deus, onde meu querido pai se encontra, gostaria de agradecer pela vida, criação e educação. Sei que onde estiver está feliz e torcendo por mim.

A minha mãe Vilma, por sempre me apoiar e me educar, minhas irmãs e cunhado pelo apoio incondicional e visitas nesses longos dois anos de caminhada. Sem vocês nada seria possível, e a certeza do amor de cada um me fortalece a cada segundo.

A minha amada companheira Emeline, agradeço por me manter de cabeça erguida a todo momento, me enchendo de amor e carinho e sendo meu porto seguro em meio a tantas tempestades (te amo!).

Ao meu orientador Dr. Ricardo Zara e coorientador Dr. Eder Flores por ter me guiado por todo esse tempo e me dado ferramentas e suporte em todas as necessidades.

Ao meu grande amigo Matheus por todo o empenho, tardes e noites no laboratório e toda a amizade, sem dúvida sem o seu suporte o trabalho nunca teria saído do papel.

Tales, obrigado por plantar a semente da pós na minha vida, a ideia do mestrado surgiu após a sua aprovação, não é a primeira vez (e com certeza não será a última) que você foi uma inspiração na minha vida, obrigado irmão.

Agradeço a Universidade Tecnológica do Paraná pelo programa de mestrado e a possibilidade desse desenvolvimento técnico e pessoal, a Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico por permitir que parte dos experimentos fossem realizados em seus laboratórios e ao pesquisador Dr. Nobuyoshi Narita que por meio da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios forneceu os frutos para o presente estudo.

RESUMO

O estresse oxidativo é um fenômeno que ocorre devido a deficiências no organismo em combater o surgimento e proliferação de espécies reativas de oxigênio. O equilíbrio entre a formação e o combate dessas espécies pode acontecer por ação do próprio organismo, ou por ingestão de nutrientes com atividades antioxidantes, sendo esses capazes de atuar como agentes ativos e de prevenção para o ser humano. As principais fontes de antioxidantes disponíveis para o humano são as frutas e hortaliças, alimentos presentes na dieta e amplamente estudados pela ciência. Um exemplo de fruto que possui atividade antioxidante é a pitiaia. A pitiaia é um fruto da família Cactaceae possuindo como principais espécies a *Hylocereus Undatus* (Hu) e a *Hylocereus Costaricensis* (Hc), e nos últimos anos vem sendo muito estudada devido a sua composição nobre em antioxidantes. O fruto quando avaliado frente a várias técnicas de quantificação de antioxidantes mostrou resultados relevantes e promissores, como por exemplo resultados de fenólicos totais igual a $33,67 \pm 1,59$ mg EAG/100 g de amostra fresca na casca da espécie Hu $52,36 \pm 5,30$ mg EAG/100 g de amostra fresca na polpa da espécie Hu. Para a casca da espécie Hc o valor encontrado foi de $44,80 \pm 3,96$ mg EAG/100 g de amostra fresca, e a polpa forneceu um valor de $66,73 \pm 5,26$ mg EAG/100 g de amostra fresca. Esses valores podem ser comparados com outros frutos já presentes na dieta do ser humano, como por exemplo a banana, que na sua polpa a quantidade de fenólicos totais chega a $57,13 \pm 3,64$ mg EAG/100 g de amostra fresca, ou o maracujá que possui $37,91 \pm 0,14$ mg EAG/100 g de amostra fresca. Outro diferencial da pitiaia é a quantidade de ácido ascórbico que tem sido encontrado em sua composição, chegando a valores iguais a $29,93 \pm 0,77$ mg/100 g de amostra fresca na polpa da Hc e $28,40 \pm 3,44$ mg/100 g de amostra fresca na polpa da Hu, valores esses superiores ao da pera, pêssego, banana, abacate e maçã, onde todos possuem quantidades inferiores a 20,0 mg/100 g de amostra fresca de ácido ascórbico em sua composição. Neste sentido a pitiaia mostra-se capaz de auxiliar a dieta junto aos frutos já presentes na alimentação, podendo atuar como agente de prevenção e combate de doenças no homem além de ser fonte de nutrientes e possuir capacidade de utilização do fruto na integra, inclusive sua casca.

Palavras chave: *Hylocereus spp.*, Vitamina C, Ácido Ascórbico, Fenólicos, Flavonoides, Atividade Antioxidante, Composição Centesimal, CLAE, Flavonoides majoritários

ABSTRACT

Oxidative stress is a phenomenon that occurs due to deficiencies in the body to combat the emergence and proliferation of reactive oxygen species. The balance between a formation and the prevention against the species can happen by the action of the own organism, or ingestion of nutrients with antioxidant activities, being these systems of action as active agents of prevention for the human being. As the main sources of antioxidants available to man and fruits and vegetables, foods are in the diet and widely studied by science. An example of fruit that has antioxidant activity is Pitaya. Pitaya is a fruit of the Cactaceae family, with the main species *Hylocereus Undatus (Hu)* and *Hylocereus Costaricensis (Hc)*, and in the last years they have been studied for their noble composition in antioxidants. Pitaya, when evaluated against various antioxidant quantification techniques, showed relevant and promising results, such as total phenolic results equal to 33.67 ± 1.59 mg GAE / 100 g of fresh sample in the peel of the *Hu* species 52.36 ± 5.30 mg GAE / 100 g fresh sample in the pulp of the *Hu* species whereas for the *Hc* peel the value found was 44.80 ± 3.96 mg GAE / 100 g fresh sample, and the pulp provided a value of 66.73 ± 5.26 mg GAE / 100 g fresh sample. These values can be compared to other fruits already present in the diet of the human being, such as the banana, which in its pulp the amount of total phenolics reaches $57,13 \pm 3,64$ mg GAE/ 100 g of fresh sample, or the passion fruit that has 37.91 ± 0.14 mg GAE / 100 g fresh sample. Another difference of pitaya is the amount of vitamin C that has been found in its composition, reaching values equal to 29.93 ± 0.77 mg / 100 g fresh sample in the *Hc* pulp and 28.40 ± 3.44 mg / 100 g of fresh sample in the *Hu* pulp, such values are higher than those of pear, peach, banana, avocado and apple, where all have amounts less than 20.0 mg / 100 g of vitamin C fresh sample in their composition. In this sense, pitaya is able to replace several fruits already present in the diet, being able to be source of nutrients and have the ability to use the fruit in its entirety, including its peel.

Keywords: *Hylocereus* spp., Vitamin C, Ascorbic Acid, Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Activity, Centesimal Composition, HPLC, Major Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura de compostos fenólicos (flavonoides) com atividade antioxidante (Adaptado de LINDSAY, 2002)	16
Figura 2 – Estrutura do Ácido Ascórbico	17
Figura 3 – Estrutura de carotenoides (MANACH et al., 2005).....	18
Figura 4 – <i>Hylocereus undatus</i> (a), <i>Hylocereus megalanthus</i> (b), <i>Hylocereus costaricensis</i> (c)	19
Figura 5 – Diagrama de testes para determinação de composição centesimal (Adaptado de CARVALHO, H.H. et. al. 2002)	21
Figura 6 – Reação geral envolvida na determinação de fenólicos totais.....	23
Figura 7 – Reação geral envolvida na determinação de atividade antioxidante por DPPH (BRAND et al., 1995).....	24
Figura 8 – Reação geral envolvida na determinação de atividade antioxidante por FRAP (RUFINO, EMBRAPA 2006)	24
Figura 9 – Reação geral envolvida na determinação de flavonoides na presença de alumínio (Adaptado de BOROSKI et al., 2015)	25
Figura 10 – Princípio cromatográfico. Separação de três analitos a partir de sua interação com a fase estacionária e fase móvel (Adaptado de COLLINS, C.H et. al. 1993)	26
Figura 11 – Princípio da estrutura de um cromatografo liquido de alta eficiência (Adaptado de COLLINS, C.H et. al. 1993)	26
Figura 12 – Frutos com tempos de maturação diferentes	29
Figura 13 – Triagem e abertura dos frutos	30
Figura 14 – Esquemática para método de fenólicos totais.....	34
Figura 15 – Esquemática para método de flavonoides	35
Figura 16 – Esquemática para método de DPPH.....	36
Figura 17 – Esquemática para método de FRAP	37
Figura 18 – Comparativo da composição fenólica em amostra seca (AS) e amostra fresca (AF).....	43
Figura 19 – Correlação gráfica entre os resultados obtidos para a atividade antioxidante entre as amostras analisadas	49
Figura 20 – Cromatograma dos padrões de flavonoides.....	50
Figura 21 – Cromatograma da composição majoritária de flavonoides na amostra de polpa de pitáia	50
Figura 22 – Cromatograma representativo do padrão de ácido ascórbico.....	52
Figura 23 – Cromatograma representativo de ácido ascórbico em amostras de pitáia	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos frutos estudados	30
Tabela 2 – Diluições para as amostras de DPPH	36
Tabela 3 – Diluições para a curva analítica de ácido ascórbico	39
Tabela 4 – Testes estatísticos e critérios adotados.....	41
Tabela 5 – Resultados para determinação de umidade	43
Tabela 6 – Resultados para composição centesimal em amostras frescas	44
Tabela 7 – Resultados para composição centesimal segundo Nurul e Asmah (2014) para a <i>Hylocereus Costaricensis</i>	45
Tabela 8 – Resultados para determinação de atividade antioxidante nas amostras em base seca	45
Tabela 9 – Resultados ácido ascórbico.....	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Uso de dieta balanceada na prevenção de doenças não transmissíveis segundo a OMS	13
3.2 Estresse oxidativo	13
3.3 Consequências do estresse oxidativo	14
3.4 Dieta rica em antioxidantes	15
3.5 Antioxidantes	15
3.5.1 Compostos Fenólicos	15
3.5.2 Flavonoides	16
3.5.3 Ácido ascórbico	16
3.5.4 Carotenoides	17
3.6 Pitaia (<i>Hylocereus</i> ssp.)	18
3.6.1 Uso medicinal	19
3.7 Determinação da composição centesimal e de atividade antioxidante	20
3.7.1 Composição centesimal	20
3.7.1.1 Técnica de determinação de cinzas totais via seca	21
3.7.1.2 Técnica de quantificação de proteínas pelo método de Kjeldahl	21
3.7.1.3 Técnica de quantificação de lipídios pelo método de Soxhlet	22
3.7.1.4 Carboidratos totais ou extrato livre de nitrogênio obtidos por diferença	22
3.7.2 Fenólicos totais	22
3.7.3 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)	23
3.7.4 FRAP (Potencial antioxidante de redução do ferro)	24
3.7.5 Flavonoides	24
3.7.6 Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE	25
4 METODOLOGIA	28
4.1 Materiais e reagentes	28
4.1.1 Reagentes e consumíveis	28

4.1.2 Equipamentos e Softwares	28
4.2 Amostragem.....	28
4.3 Composição Centesimal	31
4.3.1 Umidade - Método por estufa	31
4.3.2 Técnica de determinação de cinzas totais por via seca.....	31
4.3.3 Técnica de quantificação de proteínas pelo método de Kjeldahl	32
4.3.4 Técnica de determinação de lipídios pelo método de Soxhlet.....	33
4.3.5 Carboidratos totais ou extrato livre de nitrogênio (E.L.N ou Nifext) obtidos por diferença.....	33
4.4 Preparo dos extratos.....	33
4.5 Fenólicos totais	34
4.6 Flavonoides.....	34
4.7 DPPH	35
4.8 FRAP	37
4.9 Determinação de ácido ascórbico por CLAE	38
4.9.1 Parâmetros da metodologia:.....	38
4.10 Identificação de flavonoides por CLAE	39
4.10.1 Parâmetros da metodologia:	39
4.11 Tratamento estatístico.....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1 Composição centesimal	43
5.1.1 Umidade	43
5.1.2 Composição centesimal.....	44
5.2 Atividade antioxidante	45
5.2.1 Fenólicos totais.....	46
5.2.2 Flavonoides	47
5.2.3 FRAP	48
5.2.4 DPPH.....	48
5.2.5 Relações entre os resultados obtidos para a atividade antioxidante	49
5.3 Composição majoritária de flavonoides	50
5.4 Determinação de Ácido Ascórbico	51
6 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55

NOMENCLATURA

- OMS - Organização mundial de saúde
- DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
- FRAP – Potencial antioxidante de redução do ferro
- ERO - Espécies Reativas de Oxigênio
- DNT - Doenças não transmissíveis
- ONU - Organização das nações unidas
- SSP - Subespécies
- APTA - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
- EAG - Equivalente em ácido gálico
- BV – Balão Volumétrico
- EQ – Equivalente em Quercetina
- DNA - *Deoxyribonucleic Acid*
- Hc - *Hylocereus costaricensis*
- Hu - *Hylocereus undatus*

1 INTRODUÇÃO

Frutas e vegetais são componentes importantes dentro de uma dieta saudável. A redução no consumo desses alimentos está associada ao surgimento de inúmeros problemas de saúde e ao aumento do risco de doenças não transmissíveis. Estima-se que 6,7 milhões de mortes em todo o mundo foram atribuídos ao consumo insuficiente de frutas e hortaliças em 2010 (LIM et al., 2012).

Existem evidências que indicam que o consumo de frutas e vegetais reduzem o risco de doenças cardíacas (DAUCHET et al., 2006; HARTLEY et al., 2013), acidente vascular cerebral (HARTLEY et al., 2013; He 2006) e certos tipos de câncer (BOEING et al., 2012). Muitos desses fatores estão ligados a composição antioxidante desses alimentos.

Os antioxidantes desempenham um papel importante na redução do risco de câncer, pois possuem a capacidade de prevenir o dano oxidativo nas células do corpo (SURH, 2003). Antioxidantes estão presentes em várias vias para o ser humano, mas principalmente em alimentos ricos em compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides, entre outros.

Em meio a tantos benefícios, existem algumas variedades de frutas e hortaliças que se destacam devido a sua composição rica em nutrientes. Alguns exemplos são: a uva, o brócolis, o alho e o tomate. Dessa forma, inúmeros estudos são realizados buscando conhecer cada vez mais as particularidades e composição de outros alimentos. Um exemplo é a pitaita, um fruto que não possui muitos estudos sobre sua composição, porem apresenta grande potencial relatados na literatura.

Um fruto típico das regiões tropicais, a pitaita possui boa resistência devido a sua pouca necessidade de água e adaptação a climas quentes. Algumas das propriedades biofarmacológicas atribuídas a pitaita incluem: atividade antioxidante (LUO et al., 2014; SUH et al., 2016), atividade antiviral e antimicrobiana (STRACK et al., 2003); melhora na manutenção dos níveis de colesterol (KHALILI et al., 2009); como agente anticancerígeno (AZIZ, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar o perfil antioxidante de duas espécies de pitiaia: *Hylocereus undatus* e *Hylocereus costaricensis* a partir de técnicas gerais e específicas de determinação de capacidade antioxidante, bem como sua composição centesimal, e com isso estabelecer valores de referência para os compostos testados.

2.2 Objetivos específicos

- Coleta e amostragem dos frutos;
- Determinar a capacidade antioxidante da casca e da polpa das duas espécies de pitiaia por meio dos seguintes métodos:
 - DPPH
 - Determinação de compostos fenólicos totais
 - FRAP - redução do ferro
- Determinar a capacidade antioxidante da casca e da polpa das duas espécies de pitiaia por meio da seguinte técnica específica:
 - Determinação de flavonoides totais
- Identificar os flavonoides majoritários por CLAE com detecção no UV-Vis;
- Determinar o teor de ácido ascórbico por CLAE com detecção no UV-Vis;
- Determinar a composição centesimal das duas espécies;
- Realizar testes estatísticos no conjunto de dados de interesse para avaliar, dentro de um determinado grau de confiabilidade, se os resultados são estatisticamente válidos;
- Correlacionar os resultados obtidos e determinar se há diferença estatística entre as diferentes partes do fruto e entre as espécies.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Uso de dieta balanceada na prevenção de doenças não transmissíveis segundo a OMS

A dieta humana varia muito de região para região, bem como em relação a condições socioeconômicas da região, mas o que é de consenso geral é a procura por uma dieta balanceada rica em nutrientes.

Comportamentos de risco como o tabagismo e inatividade física, junto com uma dieta pobre em nutrientes, tem um resultado ruim para a saúde do indivíduo. Segundo a organização mundial de saúde (WHO, 2011), doenças não transmissíveis (DNT), incluindo doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e doenças respiratórias crônicas, continuam a ser as principais causas de morte em todo o mundo. DNT são atualmente responsáveis por quase 70% das mortes no mundo, em sua grande maioria ocorrendo em países de baixa e média renda.

Em sua estratégia global para dieta, atividade física e saúde, a OMS pede o envolvimento da comunidade na modificação de hábitos alimentares e a mudança para um estilo de vida preventivo. Um grande número de evidências suporta a necessidade da variedade e equilíbrio em termos dos grupos de alimentos que constituem a alimentação da população. Frutas e legumes frescos são uns dos mais importantes deles. No entanto, apesar da confirmação nos resultados da investigação científica dos benefícios de saúde do consumo regular de frutas e legumes, a OMS estima que, em geral, o consumo desses alimentos é menor que a metade da quantidade recomendada para intervenções preventivas e terapêuticas (OMS, 2013).

3.2 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é um termo geral utilizado para descrever o nível do dano oxidativo em uma célula, tecido ou órgão, sendo um tipo de estresse químico induzido pela presença em nosso corpo de quantidades anormais de espécies reativas de oxigênio (ERO). Esta condição pode ser consequência de um aumento na produção dessas espécies e/ou de uma diminuição da eficiência dos sistemas de defesa do organismo que combate esse efeito com ações antioxidantes (MCCORD,

2000). O sistema de defesa do organismo via de regra costuma ser eficiente para combater as ERO. Este é um sistema de defesa complexo, constituído por vários tipos de antioxidantes, que tem como objetivo impedir ou diminuir o potencial de ação prejudicial das ERO.

O sistema de defesa antioxidante possui componentes enzimáticos e não enzimáticos que impedem a formação das ERO e as removem antes que o dano possa ocorrer, reparando de danos oxidativos e eliminando as moléculas danificadas.

As enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase servem como uma primeira linha de defesa na destruição dos radicais livres. Juntas, elas reparam o DNA oxidado, degradam a proteína oxidada e destroem os lipídios oxidados. Muitas outras enzimas atuam como um mecanismo de defesa antioxidante secundário para proteção de danos adicionais (GUTTERIDGE, 2000; HALLIWELL, 1996; CULOTTA, 2005).

3.3 Consequências do estresse oxidativo

A presença das ERO no organismo é a principal causa de danos no DNA e o acúmulo lento e constante de danos no DNA (deoxyribonucleic acid) tem sido considerada como a principal teoria de envelhecimento (BECKMAN, 1998). Muitas mutações relacionadas com o estresse oxidativo, ou danos e reparação do DNA, também foram identificadas em humanos com síndromes de envelhecimento prematuro (MCCORD, 2000).

Atualmente, verificou-se que o estresse oxidativo pode ser envolvido em mais de 100 doenças (BECKMAN, 1998; HALLIWELL, 1996), tais como: síndrome da imunodeficiência adquirida; doenças inflamatórias (artrite, lúpus, eritematoso, síndrome de dificuldade respiratória adulta); doenças autoimunes; câncer; diabetes.

Nestas doenças, o estresse oxidativo pode ter vários papéis, podendo atuar em um órgão específico, sendo a principal causa da doença, ou para outras doenças podendo ter outras causas fundamentais levando ao estresse oxidativo, que por sua vez vai alimentar ainda mais o desenvolvimento da doença (BECKMAN, 1998; HALLIWELL, 1996).

3.4 Dieta rica em antioxidantes

É amplamente difundido que uma dieta baseada em alta ingestão de frutas e vegetais pode reduzir o risco de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como câncer e doenças cardiovasculares. Uma dieta típica fornece mais de 25 mil componentes de alimentos bioativos, muitos dos quais podem modificar um grande número de processos que estão relacionados com determinadas doenças (LINDSAY, 2002).

A maioria dos componentes de alimentos bioativos são derivados de plantas e são conhecidos como fitoquímicos (em sua grande parte antioxidantes). Existem centenas de antioxidantes que pertencem ao grupo dos carotenoides, bem como a classe de compostos formados pelos fenóis ou polifenóis, tais como derivados de ácido benzóico, flavonoides, proantocianidinas, estilbenos, cumarinas, linhanos e lenhinas (LINDSAY, 2002; MANACH et al., 2005).

Uma caracterização completa da concentração total de antioxidantes em vários alimentos e grupos de alimentos é, portanto, essencial para que seja possível identificar alimentos ricos em antioxidantes e estudar se tal dieta está associada com um risco reduzido de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

3.5 Antioxidantes

3.5.1 Compostos Fenólicos

Os fenóis são de grande importância na fisiologia das plantas com o seu papel na pigmentação, sabor, crescimento, reprodução e resistência a agentes patogênicos e predadores. Milhares de fenóis com pelo menos um anel aromático (anel fenólico) contendo grupos hidroxila foram caracterizados. Os fenóis podem ser divididos em subgrupos com base nos componentes estruturais. As distinções são, assim, feitas entre os ácidos fenólicos, flavonoides e ligninas (LINDSAY, 2002; MANACH et al., 2005).

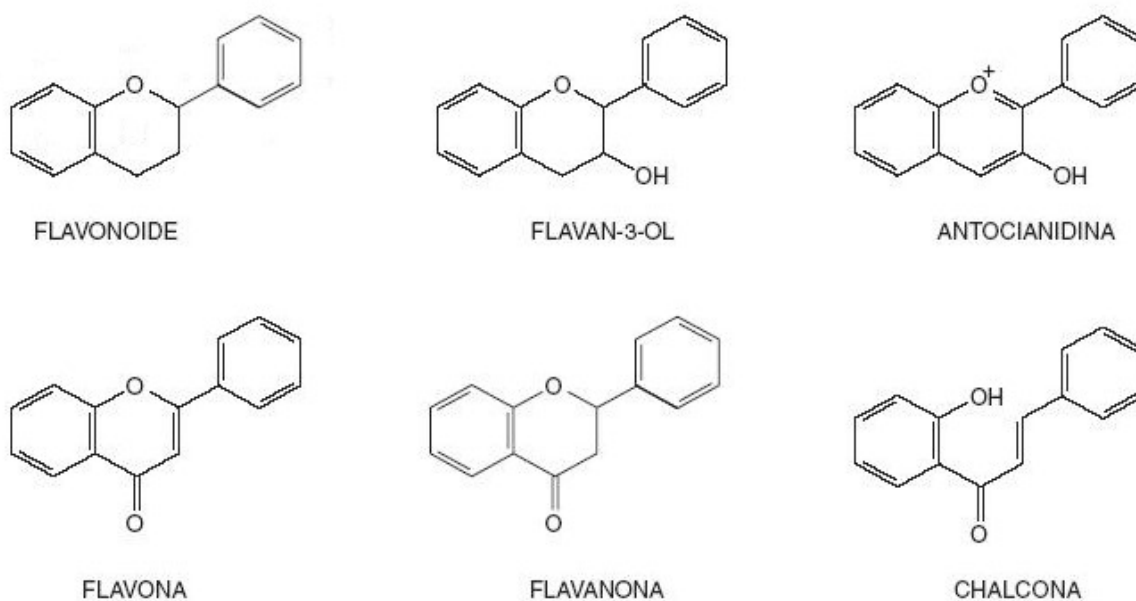
A maioria dos fenóis têm propriedades antioxidantes e são os antioxidantes mais abundantes em nossa dieta. As principais fontes alimentares de fenóis são frutas e bebidas e, em menor medida, verduras, legumes secos e cereais. O estado de maturação afeta a concentração e proporção de fenóis, onde existe uma

diminuição da concentração de ácido fenólico durante a maturação, enquanto há um considerável aumento na concentração de antocianinas (LINDSAY, 2002; MANACH et al., 2005).

3.5.2 Flavonoides

Os flavonoides são os compostos fenólicos mais comuns na dieta e podem ser divididas em seis subclasses principais: flavonas, flavanonas, flavonóis, flavonoides, antocianinas e isoflavonas (Figura 1). Dessas espécies, os flavonóis são os flavonoides mais amplamente representados nos alimentos.

Figura 1 – Estrutura de compostos fenólicos (flavonoides) com atividade antioxidante (Adaptado de LINDSAY, 2002)



Exemplos de flavonoides encontrados em frutos são: quercetina, rutina e kaempferol.

3.5.3 Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, ou como mais comumente conhecida vitamina C, é um antioxidante, bem como outras vitaminas e muitos outros nutrientes de origem vegetal (WINIFRED 1982). O ácido ascórbico e seus ésteres funcionam como

antioxidantes com alguns substratos, protegendo duplas ligações e eliminando o oxigênio. A atividade dos ascorbatos foi demonstrada em óleos vegetais, gorduras animais, vitamina A, carotenoides, óleos cítricos e em alimentos que contêm gordura, tais como peixe, margarina e leite (AUDERA et. al. 2001).

Figura 2 – Estrutura do Ácido Ascórbico



A eficiência dos ascorbatos como antioxidante depende do substrato e dos compostos a serem protegidos. Uma vez que as posições 2 e 3 do ácido ascórbico são não substituídas, os dois radicais livres formados nestas posições podem ser intermediários na eliminação de oxigênio e inibição da formação de radicais em ligações duplas (WINIFRED 1982).

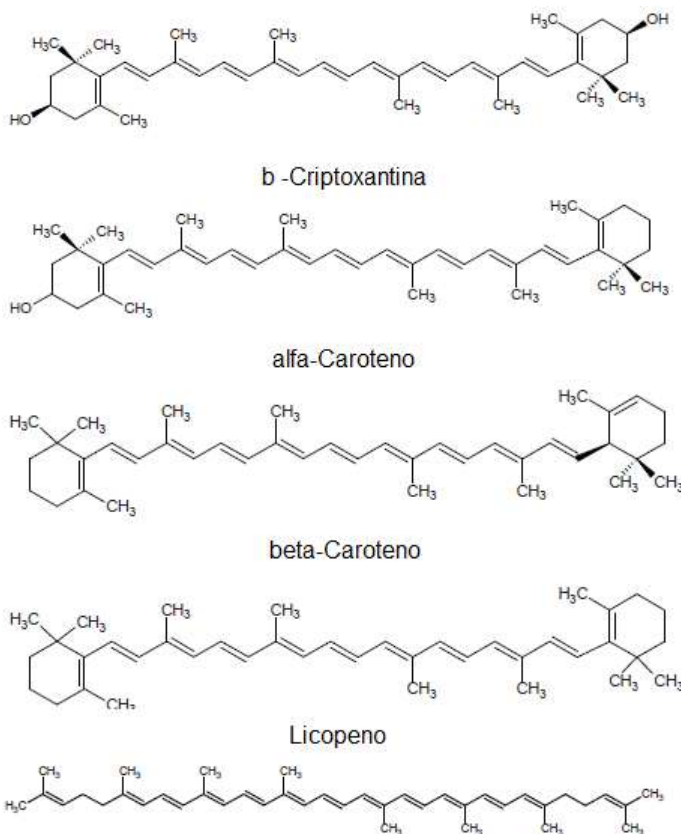
O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, o que significa que o corpo não a armazena, dessa maneira deve-se obter a mesma de outras fontes, como por exemplo frutas cítricas, brócolis e tomates (CANTER et. al. 2007).

3.5.4 Carotenoides

Outra classe de compostos antioxidantes são os carotenoides. Os carotenoides representam um grande grupo de pigmentos que são comuns na natureza e responsáveis pelo amarelo, laranja, vermelho ou roxo cores de muitos vegetais, frutas e flores. Até mil variantes que ocorrem naturalmente foram identificadas. O seu papel principal em plantas está relacionado com a coleta de luz como componentes auxiliares. Carotenoides são pigmentos lipossolúveis, que também são comuns em alguns microrganismos (LINDSAY, 2002; MANACH et al., 2005).

Pelo menos 60 carotenoides ocorrem em frutas e hortaliças consumidas pelos seres humanos. Alguns dos carotenoides podem ser convertidos em vitamina A por animais. Os carotenoides mais comuns podem ser visto a seguir na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura de carotenoides (MANACH et al., 2005)



3.6 Pitaia (*Hylocereus ssp.*)

A pitaia (*Hylocereus ssp.*), ou como também é conhecida “fruta do dragão”, é uma planta nativa da América, com origem na região da Colômbia e faz parte da família das Cactáceas e da subfamília Cereoidae. Espalhou-se e hoje podem ser naturalmente encontradas na Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia e México, em que os dois últimos países são os principais produtores a nível mundial (EDWARD, 2001).

O fruto mede de 10 a 12 centímetros de diâmetro e é vermelho ou amarelo, coberto com “escamas”. É de polpa doce e abundante possuindo coloração branca ou avermelhada. As sementes possuem 3 milímetros de diâmetro e são muito

numerosas, possuem coloração café sendo distribuídos em toda a polpa e são ricos em óleos essenciais (EDWARD, 2001).

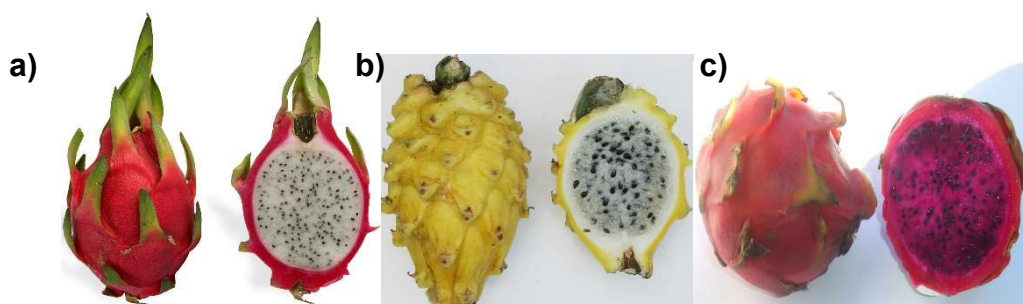
O cultivo da fruta do dragão desenvolve a partir de 0 a 1850 metros acima do nível do mar exigindo temperaturas entre 18 e 26 °C com chuvas de 1200 a 1500 mm por ano. Prefere climas quentes, mas também adaptado para climas secos (EDWARD, 2001).

No Brasil, há poucas áreas que cultivam a pitiaia, o que resulta na necessidade de importar a maioria dos frutos comercializados, levando aos preços elevados e não acessível às camadas mais populares da população. No Brasil, a pitiaia começou a ser cultivada na década de 1990, no estado de São Paulo.

As variedades comercialmente disponíveis são *Hylocereus undatus*, frutas com casca rosa avermelhada, polpa branca e sementes escuras (Figura 4 a). A espécie *Hylocereus costaricensis* ou *Hylocereus polyrhizus* (Figura 4 – c) possui casca rosa avermelhada e polpa vermelha púrpura brilhante. A espécie *Hylocereus megalanthus* possui casca amarela e polpa branca (Figura 4 – b) (BASTOS et al., 2006).

Consumido como fruta fresca ou preparado como uma bebida refrescante, processamento industrial em sucos, compotas e geleias oferece boas oportunidades; além de possuir usos medicinais.

Figura 4 – *Hylocereus undatus* (a), *Hylocereus megalanthus* (b), *Hylocereus costaricensis* (c)



3.6.1 Uso medicinal

Na última década, tem-se detectado que os frutos possuem propriedades antioxidantes (WU et al., 2006; ESQUÍVEL et al., 2007). Wu et al. (2006) verificou que a casca e polpa dos frutos são ricos em polifenóis, e a casca poderia inibir o crescimento de células de câncer (KIM et al., 2011). Tenore et al. (2012)

demonstraram que os extratos de polifenóis do fruto têm propriedades antioxidante e potencial nutracêutico.

Em ratos, um efeito contra hepatotoxicidade foi mostrado após esta ser induzida por acetaminofeno (LATIF et al., 2012). Uma dieta com base em pitaias diminuiu a dislipidemia em ratos (MOHD et al., 2009). Em termos de fertilidade, Ankli et al. (1999) determinaram que uma dieta rica em pitaias mostrou ação preventiva em casos de aborto. Aziz e Noor (2010) demonstraram os frutos promovem a fertilidade em ratos, aumentando a contagem de espermatozoides e incrementando a viabilidade espermática e taxa de produção.

Estudos relatam que uma dieta baseada no consumo de pitaias é capaz de regular níveis de colesterol por exemplo. Segundo Khalili (2009), após ratos serem submetidos a uma dieta baseada em pitaias teve potencial para reduzir níveis de TC (total colesterol), TG (triglicerídeos) e LDL-C (low-density lipoprotein cholesterol) e aumentar os níveis de HDL-C (high-density lipoprotein cholesterol). Em resumo o consumo da pitaias no estudo auxiliou na redução nos níveis de colesterol “ruim” e ajudou a elevar o colesterol “bom”, regulando os níveis naturais dos ratos.

No estudo de Choo (2016), além da atividade antioxidante da pitaias, é citada a capacidade anticâncer devido a presença de nutrientes (flavonoides) no fruto, benefícios na regulação do colesterol, efeitos probióticos e atividade antimicrobiana.

Segundo Omidzadeh et. al (2010), a administração de pitaias em ratos foi capaz de induzir um comportamento cardioprotetor nos animais. Esse efeito foi atribuído a capacidade antioxidante da pitaias.

3.7 Determinação da composição centesimal e de atividade antioxidante

3.7.1 Composição centesimal

No Brasil, tabelas nutricionais de alimentos são compilações de pesquisas realizadas em diferentes regiões do país, por isso não são levadas em conta variáveis como fatores ambientais e de plantio. As tabelas também não contêm os elementos adicionados no preparo de alimentos processados, especialmente óleos e gorduras.

Convencionou-se chamar “Composição Centesimal” de um alimento a proporção em que aparecem, em 100 g do produto, grupos homogêneos de

substâncias que constituem o alimento (CARVALHO et. al. 2002). Também por convenção, os grupos homogêneos de substâncias constituintes do alimento são os seguintes:

1. Umidade ou voláteis a 105 °C
2. Cinzas ou resíduo mineral fixo
3. Lipídios, gorduras ou extrato etéreo;
4. Proteína bruta ou extrato nitrogenado;
5. Carboidratos, glicídios, açúcares ou sacarídeos;

Figura 5 – Diagrama de testes para determinação de composição centesimal (Adaptado de CARVALHO, H.H. et. al. 2002)



3.7.1.1 Técnica de determinação de cinzas totais via seca

O método está baseado na determinação da perda de peso do material submetido à queima em temperaturas entre 550-570°C. A determinação de cinzas permite verificar a adição de matérias inorgânicas ao alimento. A perda de peso fornece o teor de matéria orgânica do alimento. A diferença entre o peso original da amostra e o peso de matéria orgânica fornece a quantidade de cinza presente no produto (CECCHI et. al. 2003).

3.7.1.2 Técnica de quantificação de proteínas pelo método de Kjeldahl

O método de Kjeldahl determina a matéria nitrogenada total de uma amostra. A base do processo de Kjeldahl é o deslocamento do nitrogênio presente na amostra, transformando-se em sal amoniacal (sulfato de amônio, por meio de

H₂SO₄). A seguir, desse sal obtido, desloca-se o amônio recebendo-se sobre a solução ácida (ácido bórico). Por titulação determina-se a quantidade de nitrogênio que lhe deu origem (CECCHI et. al. 2003).

3.7.1.3 Técnica de quantificação de lipídios pelo método de Soxhlet

O processo é eminentemente gravimétrico e está baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter de petróleo (CECCHI et. al. 2003).

3.7.1.4 Carboidratos totais ou extrato livre de nitrogênio obtidos por diferença

Esta fração corresponde ao extrato livre de nitrogênio (nitrogen free extract). Engloba diversos compostos tais como: fécula e amido, açúcares, gomas, resinas, ácidos orgânicos, etc. Esta determinação do conteúdo provável de carboidratos na amostra é efetuada por diferença entre 100 (percentual total) e o somatório dos percentuais encontrados para umidade, cinzas, fração protéica, fibra e gordura (CECCHI et. al. 2003).

3.7.2 Fenólicos totais

A análise de compostos fenólicos totais dos extratos foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965). Singleton e Rossi (1965) descrevem o preparo do reagente e demonstram a sua aplicabilidade na determinação de fenólicos totais em sua metodologia.

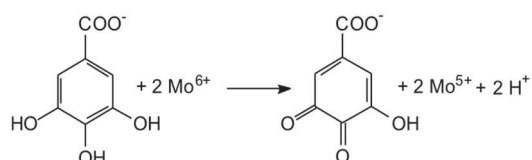
O reagente de Folin-Ciocalteu é composto de sais de tungstato de sódio e molibdato de sódio em meio de ácido clorídrico e ácido fosfórico (o qual fornece a cor amarelada ao reagente).

O mecanismo do reagente se dá devido a presença de espécies redutoras (tais como os compostos fenólicos) onde ocorre a redução desses sais, para estados de oxidação entre V e VI, e formação das espécies reduzidas, denominadas complexos de molibdênio-tungstênio, os quais desenvolvem uma coloração azul, cuja intensidade é proporcional ao número de hidroxilas ou grupos potencialmente oxidáveis nos compostos fenólicos (SINGLETON e ROSSI, 1965).

Os compostos fenólicos reagem com o reagente de Follin-Ciocalteu sob condições básicas, para tal, uma solução de carbonato de sódio é utilizada, para que o pH fique em torno de 10. A remoção do próton fenólico leva a formação do ânion fenolato, o qual é capaz de reduzir o reagente de Follin-Ciocalteu. Essa reação de oxirredução não depende da estrutura dos composto fenólicos envolvidos (JIMENEZ, 2010).

O desenvolvimento da reação (Figura 6) é possível observar em um espectrofotômetro de absorção molecular no UV-Vis ($\lambda = 725 \text{ nm}$). A reação a seguir ilustra a reação entre um composto fenólico redutor e a espécie oxidante presente no Reagente de Folin:

Figura 6 – Reação geral envolvida na determinação de fenólicos totais



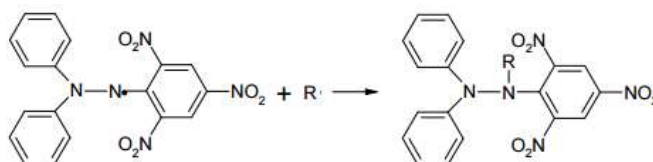
O mecanismo em que se baseia esse ensaio detecta a presença de todas as substâncias reduzidas pelo reagente de Follin-Ciocalteu, não obrigatoriamente refletindo os compostos fenólicos totais. Como este é um método não específico, o ácido ascórbico, carboidratos ou minerais, como o Cu (I) podem participar da reação, figurando como interferente desta análise. Esse método não apresenta dados quantitativos individuais e qualitativos dos constituintes fenólicos. Devido a esse detalhe intrínseco ao método, outras técnicas mais específicas serão adotadas buscando definir um perfil antioxidante a espécie estudada.

3.7.3 DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

O método DPPH (BRAND et al., 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância (visível em um espectrofotômetro a $\lambda=515 \text{ nm}$). O DPPH possui um átomo de nitrogênio que está ligado diretamente ao anel. Este átomo de nitrogênio possui um elétron desemparelhado, caracterizando o mesmo como um radical. Esse nitrogênio é responsável pela estabilização do DPPH junto com a espécie

antioxidante (Figura 7), e com isso a mudança da coloração da solução (devido a alteração do seu grupo cromóforo).

Figura 7 – Reação geral envolvida na determinação de atividade antioxidante por DPPH (BRAND et al., 1995)

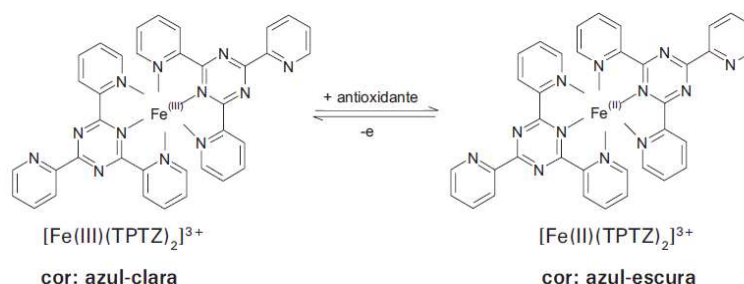


Esse método foi modificado com ao longo do tempo para medir os parâmetros cinéticos. As mudanças também foram realizadas com o passar dos anos buscando atender melhor a estabilização dos reagentes envolvidos e solubilidade.

3.7.4 FRAP (Potencial antioxidante de redução do ferro)

A técnica utiliza o reagente 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina para determinar o poder de redução de determinada substância. Esse reagente na presença de uma substância antioxidante redutora e em meio ácido, recebendo um elétron e sendo reduzida (Figura 8), apresentando intensa coloração azul que pode ser quantificada via espectrofotometria de absorção molecular a 593 nm.

Figura 8 – Reação geral envolvida na determinação de atividade antioxidante por FRAP (RUFINO, EMBRAPA 2006)



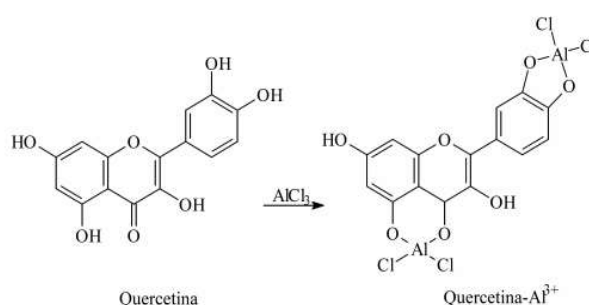
3.7.5 Flavonoides

O método utilizado para determinação de flavonoides baseia-se na reação de complexação com o metal alumínio. O método original (DOWN, 1959) propõe uma

reação onde a estequiometria entre a quercetina (padrão de referência) e o cloreto de alumínio é de 1 para 1 (BOROSKI et al., 2015).

A identificação é dada pela formação de um complexo amarelo formado a partir da reação dos antioxidantes e o alumínio (Figura 9). Tal reação pode ser verificada em espectrofotômetro a 425 nm. A reação padrão de formação do complexo estável de alumínio e as espécies de flavonoides é apresentada a seguir:

Figura 9 – Reação geral envolvida na determinação de flavonoides na presença de alumínio
(Adaptado de BOROSKI et al., 2015)

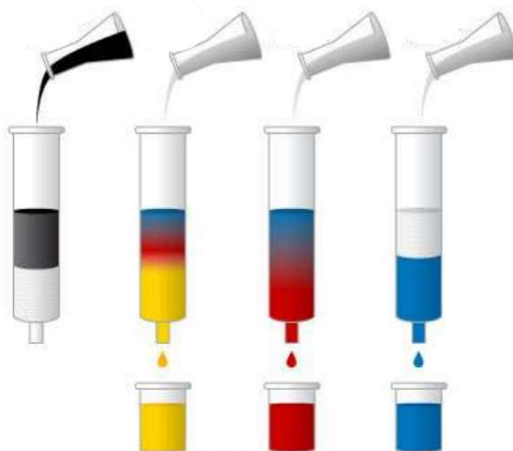


3.7.6 Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

A cromatografia é uma técnica de separação de substância em uma amostra. A separação ocorre devido a particularidade das estruturas moleculares das substâncias que se quer separar e composição molecular da amostra. Para tal essa separação envolve uma fase estacionária (um sólido ou um líquido suportado em um sólido) e uma fase móvel (um líquido ou um gás) (COLLINS *et. al.* 1993, LOUGH *et. al.* 1995).

A fase móvel flui através da fase estacionária e transporta os componentes da mistura com ela. Componentes de amostra que exibem interações mais fortes com a fase estacionária moverão mais lentamente através da coluna do que componentes com interações mais fracas. Esta diferença causa a separação dos componentes (COLLINS *et. al.* 1993).

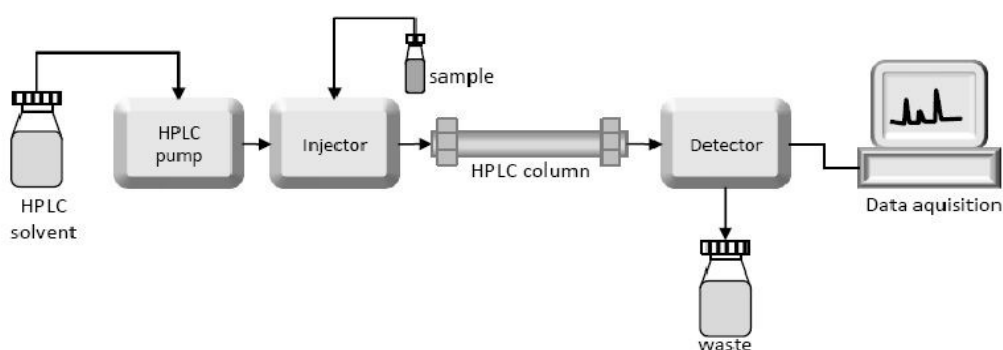
Figura 10 – Princípio cromatográfico. Separação de três analitos a partir de sua interação com a fase estacionária e fase móvel (Adaptado de COLLINS, C.H et. al. 1993)



As separações cromatográficas podem ser realizadas utilizando uma variedade de fases estacionárias, incluindo sílica imobilizada em placas de vidro (cromatografia em camada delgada), gases voláteis (cromatografia gasosa), papel (cromatografia em papel) e líquidos (cromatografia líquida) (CHAVES et. al. 1997. MALDANER et. al. 2010).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma forma altamente melhorada de cromatografia líquida em coluna. Em vez de um solvente ser deixado escorrer através de uma coluna sob a gravidade, é realizada força sob altas pressões de até 400 atmosferas, tornando a muito mais rápido (COLLINS et. al. 1993, LOUGH et. al. 1995).

Figura 11 – Princípio da estrutura de um cromatografo liquido de alta eficiência (Adaptado de COLLINS, C.H et. al. 1993)



Nesse esquema é representada as partes de um CLAE, onde a fase móvel é bombeada a alta pressão pela bomba por todo o sistema. O injetor é responsável

por realizar a coleta da amostra e a mesma é colocada no sistema por meio da fase móvel. Uma vez que a amostra se encontra no sistema a coluna cromatográfica é responsável por realizar a separação das espécies. O sistema de CLAE também possui mais dois componentes, um responsável por observar a saída das espécies depois da separação da coluna, conhecido como detector, e um componente exclusivo responsável por converter os dados do detector para um formato que se pode quantificar.

A separação na cromatografia líquida de alta eficiência pode ocorrer de várias maneiras, dependendo da matriz e substâncias que se pretende separar. Por exemplo:

CLAE de fase normal: Separa os analitos com base na polaridade, utilizando fase estacionária polar e fase móvel não polar. As amostras polares são assim retidas na superfície polar da coluna mais fortemente do que os materiais menos polares.

CLAE de fase reversa: A fase estacionária é de natureza não polar (hidrofóbica), enquanto que a fase móvel é um líquido polar. O princípio de separação baseia-se em interações hidrofóbicas, portanto, quanto menos polar o material é, mais tempo ele será mantido na fase estacionária.

Esses são os exemplos mais usuais, entretanto existem também a cromatografia por exclusão de tamanho, troca iônica, interação hidrofílica, entre outras.

Uma das grandes vantagens da CLAE é a sua capacidade de separar vários tipos de moléculas. Consequentemente foi necessário desenvolver vários tipos de detectores devido as particularidades das moléculas separadas. Comercialmente encontra-se com mais facilidade detectores do tipo ultra violeta-visível (UV-VIS) e de arranjo de foto diodos (PDA), índice de refração, dispersão de luz, espectrómetro de massa, detector de condutividade e detector de fluorescência (COLLINS et. al. 1993, LOUGH et. al. 1995).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais e reagentes

4.1.1 Reagentes e consumíveis

Etanol Absoluto Vetec®; papel filtro quantitativo Metaquimica®; ácido gálico Sigma Aldrich®; Reagente Folin Ciocalteau Sigma Aldrich®; carbonato de sódio Vetec®; quercetina Sigma Aldrich®; metanol Vetec®; cloreto de Alumínio Sigma Aldrich®; trolox Sigma Aldrich®; DPPH Sigma Aldrich®; sulfato ferroso Sigma Aldrich®; metanol Aldrich®; ácido fosfórico Aldrich®; ácido acético Aldrich®.

4.1.2 Equipamentos e Softwares

Balança Welmy® BCW 6/15/30; Liquidificador Mondial®; Estufa Marconi®; Vortex Phonexis Lab®; Agitadora orbital Marconi®; Espectrofotômetro PG Instruments Ltd® Modelo T 80+; Cromatografo liquido de alta eficiência Thermo Scientific® Ultimate 3000; Coluna Cromatografica NST®; Pacote Office - Microsoft Excel 2016; Pacote Office - Microsoft Word 2016.

4.2 Amostragem

Os frutos de pitaia foram doados pela Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (Apta) por meio do pesquisador Nobuyoshi Narita. A agência localiza-se no polo Regional da Alta Sorocabana em Presidente Prudente (São Paulo).

O clima de Presidente Prudente é caracterizado como tropical chuvoso com diminuição de chuvas no inverno e temperatura média anual de 22,7 °C, tendo invernos secos e frios (com ocorrências de geadas leves em alguns poucos dias da estação) e verões chuvosos com temperaturas altas. O mês mais quente, fevereiro, tem temperatura média de 25,3 °C, e os mais frios, junho e julho, de 19,1 °C. Outono e primavera são estações de transição (CPA UNICAMP, 2016).

A precipitação média anual é de 1361 mm, sendo agosto o mês mais seco (42 mm) e janeiro o mais chuvoso (218 mm). Nos últimos anos os dias quentes e secos durante o inverno têm sido cada vez mais frequentes, não raro ultrapassando a

marca dos 30 °C, especialmente entre os meses de julho e setembro (CPA UNICAMP, 2016).

Os frutos foram numerados de 1 a 40, sendo que dos frutos enviados para estudo, foram selecionados os 10 (de cada espécie) que apresentavam maturação mais próxima, devido ao conhecimento prévio que a atividade antioxidante está totalmente ligada a maturação do fruto. Na Figura 12 pode ser observado que os frutos apresentam estádios de maturação diferentes, mostrando a necessidade da seleção dos frutos.

Figura 12 – Frutos com tempos de maturação diferentes

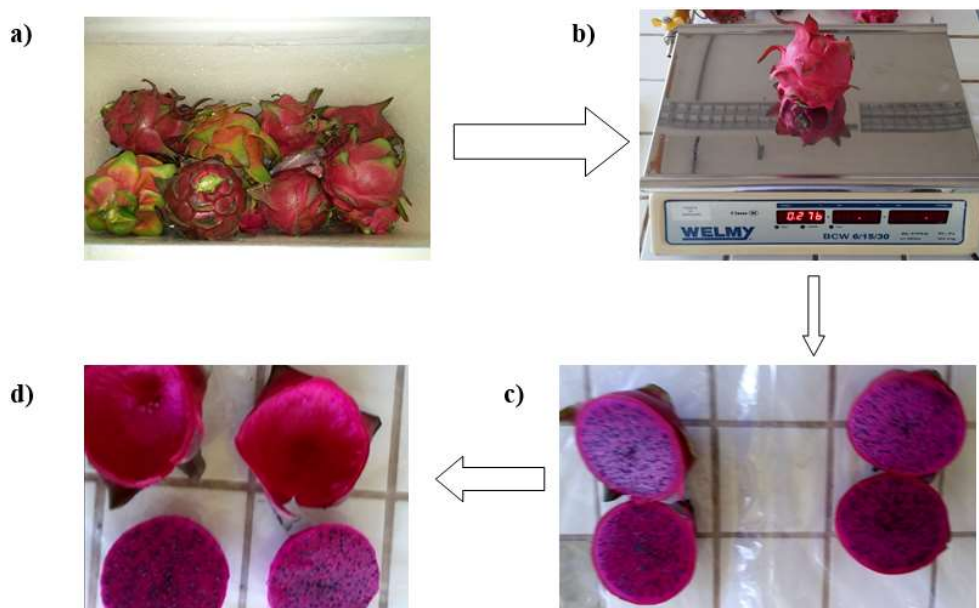


Dos 10 frutos selecionados pela maturação, os mesmos foram aleatoriamente separados em dois grupos de cinco frutos por sorteio, onde um grupo serviria para realização dos testes e os outros cinco seriam congelados para testes futuros se necessários.

Após a separação e acondicionamento adequado, os frutos foram limpos, secos e identificados com sua numeração inicial. Na sequência os frutos foram pesados (Figura 13-b) por inteiro para avaliação da diferença entre os frutos.

Com os frutos pesados, os mesmos foram abertos para que fossem separadas as cascas das polpas (Figura 13-c e Figura 13-d):

Figura 13 – Triagem e abertura dos frutos



Depois de separada a polpa da casca, as partes foram processadas uma a uma (os frutos foram processados separadamente um a um e suas partes foram processadas separadamente uma a uma igualmente) em liquidificador até obter uma mistura homogênea. De cada processado foram retiradas três alíquotas para determinação da umidade e o restante foi armazenado em embalagem plástica próprio para vácuo. Após identificação todos os processados foram submetidos a vácuo e congelado até o preparo do extrato para as análises.

Dessa maneira, os frutos foram identificados conforme Tabela 1:

Tabela 1 – Identificação dos frutos estudados

	<i>Hylocereus costaricensis</i>	<i>Hylocereus undatus</i>
Analisadas	5	1
	13	11
	26	32
	12	23
	27	34
Controles	2	21
	9	22
	14	24
	18	29
	33	31

4.3 Composição Centesimal

4.3.1 Umidade - Método por estufa

Previamente lavou-se e secou-se as placas de Petri sendo posteriormente todas pesadas. Pesou-se 2,0 g de cada amostra, previamente processada e em triplicata, em sua respectiva placa de vidro e transportou-se até a estufa.

Colocou-se as placas de vidro na estufa na temperatura de 105 °C e foi deixado por 3 horas até peso constante. Foi retirada a placa de vidro da estufa com uma pinça e colocou-se num dessecador para esfriar. Pesou-se, depois de frio, o conjunto placa de vidro mais amostra seca.'

Na sequência o conjunto retornou para a estufa por mais uma hora e o mesmo procedimento de pesagem foi repetido. Se a massa obtida for próxima a da primeira pesagem (diferença máxima de 0,1%) o teste deve ser finalizado. O peso da água evaporada é igual à diferença entre o peso da amostra úmida do peso da amostra seca. Os sólidos totais serão a diferença entre o peso total da amostra e o peso de água.

4.3.2 Técnica de determinação de cinzas totais por via seca

Pesou-se em cadinho calcinado 5 g de amostra anotando-se o peso do cadinho vazio e o peso da amostra. A incineração foi iniciada aos poucos, em bico de Bunsen, procurando aquecer igualmente todas as faces do cadinho, transferindo-se o cadinho para o forno mufla a 550°C, deixando-o por um espaço de tempo suficiente para a total destruição da matéria orgânica, até obter cinzas brancas.

A temperatura foi diminuída até, pelo menos, 150°C, retirando-se o cadinho e deixando-se esfriar completamente em dessecador por, aproximadamente, 25 minutos e pesou-se após esfriar.

Cálculo:

$$\%Cinza = \frac{\text{Peso da cinza} \times 100}{\text{Peso da amostra}}$$

Peso da amostra A diferença entre o peso do conjunto após a incineração e o peso do cadinho vazio foi a quantidade de cinzas da amostra.

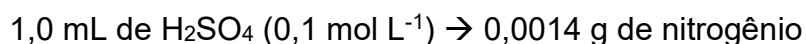
4.3.3 Técnica de quantificação de proteínas pelo método de Kjeldahl

Pesou-se 500 mg da amostra em papel manteiga e anotou-se o peso. O conteúdo foi colocado no tubo de digestão de proteína. Pesou-se 2,5 g de sulfato de sódio e adicionar ao tubo, vertendo 12 a 14 mL de solução sulfo-cúprica.

A amostra foi levada a digestor a uma temperatura de 420°C até que a solução se torne esverdeada (aproximadamente uma hora). Na sequência realizou-se a destilação colocando 12 mL de ácido bórico 4% em erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 40 mL de água destilada e 3 gotas de indicador Tashiro, sendo que ao fim do processo a solução ficou verde.

A amostra foi titulada com ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ até que a cor da solução tornou-se roxa).

Para cálculo, tomou-se como referencial que:



Sendo o resultado obtido para 100 g de produto seco:

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{K \times V \times \text{Fator}}{P}$$

Onde:

K = Fc x 0,0014 x 100;

Fc = fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1N;

P = massa da amostra em gramas;

V = volume da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação;

Fator = fator de conversão do nitrogênio em proteína;

Fator = fator de conversão de nitrogênio para proteína (6,25).

4.3.4 Técnica de determinação de lipídios pelo método de Soxhlet

Pesou-se de 2 a 5 g de amostra em um cartucho de Soxhlet previamente preparado com papel filtro e algodão e o peso foi anotado. Preencheu o cartucho com algodão, até cobrir toda a amostra e secou em estufa a 105°C, por 2 horas.

Na sequência foi colocado o cartucho dentro do extrator de Soxhlet e foi adicionado 250 mL de éter de petróleo e iniciou-se o processo durando ao todo 8 horas e posteriormente a secagem a massa foi anotada.

Cálculos:

$$\text{Lipídios(\%)} = \frac{\text{PL} \times 100}{\text{P}}$$

PL = Peso do balão com gordura – Peso do balão antes da extração;

P = peso da amostra.

4.3.5 Carboidratos totais ou extrato livre de nitrogênio (E.L.N ou Nifext) obtidos por diferença

E.L.N. (%) (tomado como carboidratos) = 100 – (% umidade + %cinzas + % proteínas + % gorduras)

4.4 Preparo dos extratos

Os extratos das frutas foram obtidos a partir de 2,0 g de amostra previamente processadas. O preparo foi realizado para a polpa e a casca em triplicata.

Com os processados em temperatura ambiente, foram pesados aproximadamente 2,0 g de amostra em um erlenmeyer de 50 mL seco e limpo. Na sequência adicionou-se 10 mL de etanol absoluto e homogeneizou-se em vórtex por aproximadamente 2 minutos. Após esta etapa, a solução foi levada em agitação durante 60 minutos em agitadora orbital ao abrigo da luz.

Em seguida, as amostras foram filtradas a vácuo com papel filtro quantitativo e transferidas para balões volumétricos de 25 mL e avolumada com água destilada. Os filtrados foram acondicionados em tubos tipo Falcon para análises.

4.5 Fenólicos totais

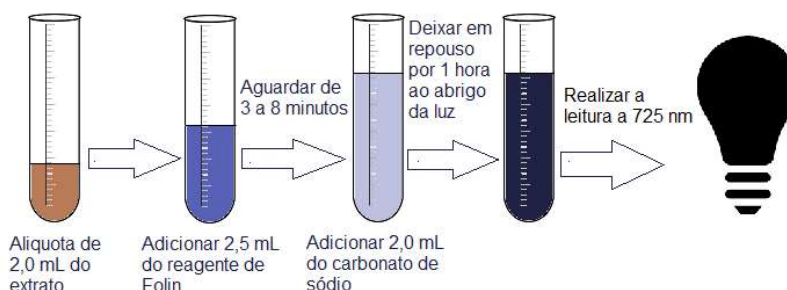
O preparo da curva de calibração foi realizado a partir de três soluções estoque. Para cada solução foi pesado 20 mg de padrão de ácido gálico e diluído em balão volumétrico de 100,0 mL com água destilada resultando em uma solução com concentração de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Após homogeneizar cada solução realizaram-se as diluições nas concentrações de 5,0/7,5/10,0/14,0/17,0/20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A partir dos extratos previamente preparados coletou-se uma alíquota de 2,0 mL e transferiu para tubos de ensaio protegidos da luz. Em seguida foi adicionado 2,5 mL do reagente Folin Ciocalteau diluído. A mistura permaneceu em repouso de 3 a 8 minutos. Em seguida foi adicionado 2,0 mL de carbonato de sódio 4% e os tubos foram deixados em repouso por 1 hora, ao abrigo da luz (Figura 14).

Um preparo de amostra foi realizado igualmente, mas com a ausência de extrato, que serviu de branco no momento da leitura.

Figura 14 – Esquemática para método de fenólicos totais



Mediu-se a absorvância em espectrofotômetro a 760 nm. Os resultados dos compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg EAG por 100,0 g de extrato) com base na equação da reta obtida para a curva de calibração de ácido gálico previamente preparada e lida.

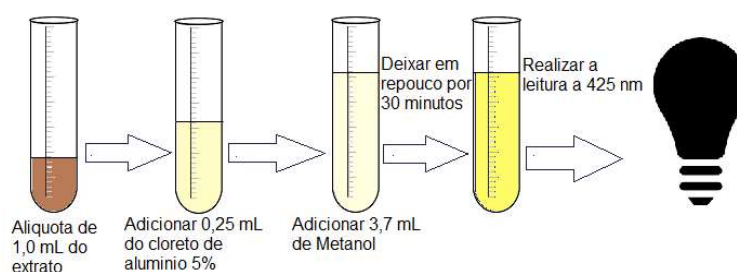
4.6 Flavonoides

O preparo da curva de calibração foi realizado a partir de três soluções estoques. Para cada estoque pesou-se 10 mg de padrão de quercetina e diluiu-se em balão volumétrico de 5 mL com metanol em uma concentração de 2000 mg L^{-1} .

Após homogeneizar cada estoque realizaram-se as diluições nas concentrações de 10,0/30,0/50,0/80,0/100,0 mg mL⁻¹. A partir dos extratos previamente preparados coletou-se uma alíquota de 1,00 mL e transferiu para tubos de ensaio protegido da luz. Logo após adicionou-se 0,25 mL do cloreto de alumínio 5% e 3,70 mL de metanol. A mistura permaneceu em repouso por meia hora, ao abrigo da luz (Figura 15).

Um preparo de amostra seguiu igualmente, mas com a ausência de extrato para a leitura do branco.

Figura 15 – Esquemática para método de flavonoides



Foi medida a absorbância em espectrofotômetro a 425 nm. Os resultados dos flavonoides foram expressos em equivalente de quercetina (mg EQ por 100 g de extrato). Os dados foram calculados a partir da curva de calibração de ácido gálico previamente preparada e lida.

4.7 DPPH

Procedeu-se o preparo da curva de calibração a partir de três soluções estoques. Para cada estoque pesou-se 25 mg de padrão de trolox e diluiu-se em balão volumétrico de 50 mL com etanol ([trolox] = 500 µg mL⁻¹).

Após homogeneizar cada estoque seguiu com diluições nas concentrações de 25, 125, 250, 375 e 500 µg mL⁻¹. Posteriormente pipetou-se 30 µL de cada concentração de padrão para tubos de ensaio, adicionando-se 2,0 mL de solução de DPPH (0,06 mmol L⁻¹) mantendo as soluções em ao abrigo da luz por 60 minutos.

A partir de cada extrato obtido anteriormente (2 g para balão volumétrico de 25 mL) foram preparadas as seguintes diluições (Tabela 2), em etanol, para as amostras:

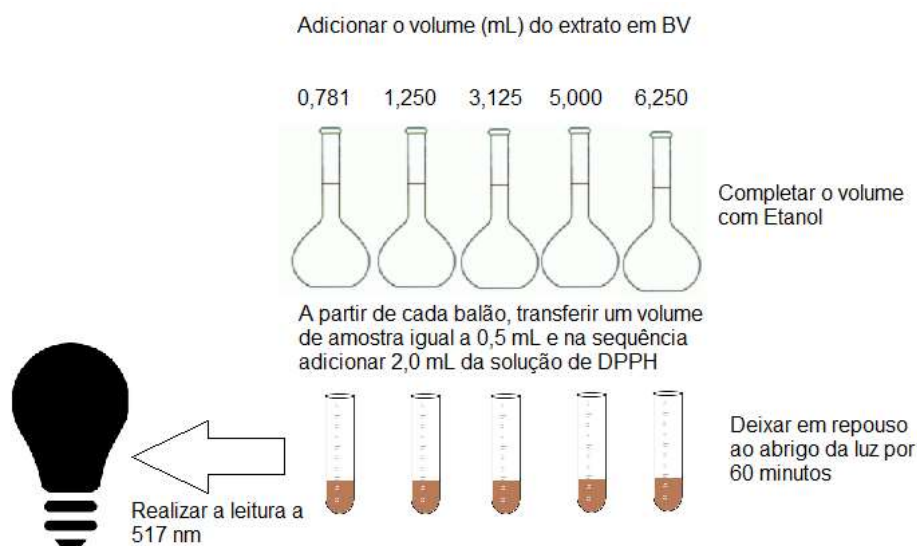
Tabela 2 – Diluições para as amostras de DPPH

Amostra (mg mL ⁻¹)	Volume pipetado (mL)	Balão volumétrico	Concentração final (mg mL ⁻¹)
80	0,781	25	2,5
80	1,250	10	10
80	3,125	10	25
80	5,000	10	40
80	6,250	10	50

A partir de cada solução obtida, pipetou-se 0,5 mL em tubo de ensaio, com 2,0 mL da solução de DPPH, deixando as amostras em repouso por 60 minutos ao abrigo da luz, obtendo assim soluções de cada amostra com concentrações de 0,5/ 2,0/ 5,0/ 8,0/ 10,0, respectivamente em mg mL⁻¹ (Figura 16).

Um preparo de amostra seguiu igualmente, mas com a ausência de extrato para a leitura do branco.

Figura 16 – Esquemática para método de DPPH



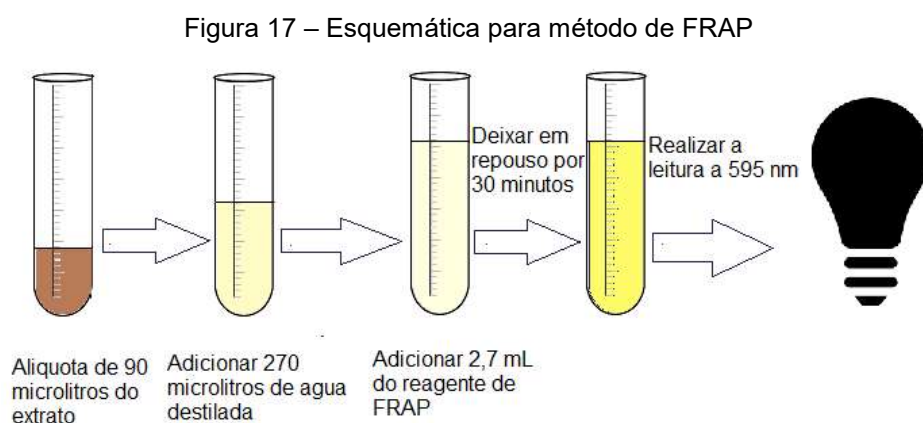
A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 517 nm. Os resultados do DPPH foram expressos em IC₅₀, que é uma média da inibição de um composto (50% de inibição), ou seja, a quantidade necessária para que seja consumido 50% do DPPH presente na solução pelas espécies antioxidantes presentes. O IC₅₀ foi obtido através da curva gerada por cada amostra.

4.8 FRAP

A partir da solução padrão de sulfato ferroso ($2000 \mu\text{mol L}^{-1}$), foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $2000 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Ao abrigo da luz, foi transferida uma alíquota de $90 \mu\text{L}$ de cada solução de sulfato ferroso para tubos de ensaio, acrescentou-se $270 \mu\text{L}$ de água destilada e foi misturado com $2,7 \text{ mL}$ do reagente FRAP, homogeneizou-se em agitador de tubos e foi mantido em banho-maria a 37°C . Realizou-se a leitura (595 nm) após 30 minutos da mistura e foi utilizado o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro.

A partir dos extratos previamente preparados foi transferido, ao abrigo da luz, uma alíquota de $90 \mu\text{L}$ de cada diluição do extrato para tubos de ensaio, acrescentou-se $270 \mu\text{L}$ de água destilada, foi misturado com $2,7 \text{ mL}$ do reagente FRAP, homogeneizou-se em agitador de tubos e manteve-se em banho-maria a 37°C . Foi realizada a leitura (595 nm) após 30 minutos da mistura preparada e utilizado o reagente FRAP como branco para calibrar o espectrofotômetro (Figura 17).



Foi medida a absorbância em espectrofotômetro a 595 nm . Os resultados de FRAP foram expressos em equivalente de sulfato ferroso (mg equivalente de sulfato ferroso por 100 g de extrato), com base na equação da reta da curva de calibração de ácido gálico previamente preparada e lida:

$$Y = AX+B$$

Onde Y é a absorbância da amostra, A é o coeficiente angular da curva do padrão de sulfato ferroso, X é a concentração de FRAP em mg equivalente de sulfato ferroso por litro de amostra e B é o coeficiente linear da curva do padrão.

4.9 Determinação de ácido ascórbico por CLAE

A metodologia analítica utilizada para determinação de ácido ascórbico no extrato de pitaia seguiu conforme metodologia desenvolvida e validada por Hung Khiem (2013).

4.9.1 Parâmetros da metodologia:

Técnica: Cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção por absorção molecular na região do ultravioleta/visível (HPLC-UV/Vis)

Parâmetros cromatográfico:

Soluções Limpeza:	Coluna: MeOH 10%
	Injetor: MeOH 70%
Fluxo:	1,0 mL min ⁻¹
Volume de Injeção:	20,0 µL
Coluna:	C18 150X4,6 mm, 5 µm
Temperatura da Coluna:	Ambiente
Detector:	UV/Vis: 210 nm

Preparo das Soluções

- Ácido acético glacial 0,025%: Misturou-se 1,0 L de água ultrapura a 250 µL de ácido acético glacial e homogeneizou. Desgaseificar e filtrar em membrana hidrofílica.
- Diluente: Metanol 90% em água purificada (v/v)

Preparo das Amostras

- Solução Padrão (curva analítica): Foi transferido 13,0 mg de padrão de ácido ascórbico para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se 70 mL de diluente e levou ao vortex até completa solubilização. O volume foi completado com diluente e homogeneizado. A curva de padrões foi preparada conforme Tabela 3:

Tabela 3 – Diluições para a curva analítica de ácido ascórbico

Aliquota (mL)	Diluição mL	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
2,50	5,0	65,00
5,39	20,0	35,00
2,98	50,0	7,74
1,92	50,0	5,00
0,67	50,0	1,73

- Solução Teste: Transferiu-se 9,0 mL do extrato para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com diluente, a solução foi homogeneizada e então filtrada em membrana de Nylon 0,22 μm .

4.10 Identificação de flavonoides por CLAE

A metodologia analítica utilizada para identificação dos flavonoides majoritários seguiu conforme Gray (2007) para determinação de flavonoides. Para confirmação dos tempos de retenção dos flavonoides foram utilizados padrões de referência.

4.10.1 Parâmetros da metodologia:

Técnica: Cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção por absorção molecular na região do ultravioleta/visível (HPLC-UV/Vis)

Parâmetros do sistema:

Soluções Limpeza:	Coluna: MeOH 10%
	Injetor: MeOH 70%
Fluxo:	1,0 mL min ⁻¹
Volume de Injeção:	20,0 µL
Coluna:	C18 150X4,6 mm, 5 µm
Temperatura da Coluna:	Ambiente
Detector:	UV/Vis: 370 nm

Preparo das Soluções

- Fase móvel: Foi misturado 500 mL de água purificada, 500 mL de metanol e 0,5 mL de ácido fosfórico concentrado e homogeneizou-se. Desgaseificou e filtrou em membrana hidrofílica.
- Diluente: metanol

Preparo das Amostras

- Solução Padrão: Foi transferido 0,50 mL do Mix de Flavonoides para balão volumétrico de 1,0 mL e completou o volume com diluente.
- Solução Teste: Filtrou-se em membrana de Nylon 0,22 µm o extrato previamente preparado.

4.11 Tratamento estatístico

Testes estatísticos foram aplicados aos resultados obtidos buscando verificar a validade dos mesmo em um determinado grau de confiança, para isso foram avaliados se as distribuições dos conjuntos de dados seguem um comportamento normal bem como se havia a presença de outliers nos dados.

Para verificar se as medias dos conjuntos de dados são semelhantes ou não foi realizado um teste t de diferença de medias.

Tabela 4 – Testes estatísticos e critérios adotados

	Normalidade	Outliers	Diferença de médias
Umidade	Sim	Sim	Sim
Fenólicos totais	Sim	Sim	Sim
Flavonoides	Sim	Sim	Sim
DPPH	Sim	Sim	Sim
FRAP	Sim	Sim	Sim
Ácido ascórbico	Sim	Sim	Sim
Cinzas	Sim	Sim	Sim
Proteínas	Sim	Sim	Sim
Carboidratos	Sim	Sim	Sim
Lipídios	Sim	Sim	Sim

Para determinar se o conjunto de dados possui um comportamento normal, adotou-se o teste de Anderson Darling. O teste de Anderson-Darling é usado para testar se um conjunto de dados veio de uma população com uma distribuição específica. É uma modificação do teste Kolmogorov-Smirnov (K-S) e faz uso da distribuição específica no cálculo de valores críticos. Isto tem a vantagem de permitir um teste mais sensível e a desvantagem de que valores críticos devem ser calculados para cada distribuição (ISIGMASIX, 2017).

As hipóteses adotadas nesse teste são:

H₀: Os dados são amostrados a partir de uma população que é normalmente distribuído (não houve diferença entre os dados e os dados normais).

H_A: Os dados são amostrados a partir de uma população que não é normalmente distribuída.

Critério: Rejeita-se a hipótese nula se o P valor obtido for menor que o valor de alfa (alfa = 0,05)

Para testar a presença de outliers no conjunto de dados utilizou-se o teste de Grubbs. O Teste de Grubbs é um teste estatístico que detecta um outlier de cada vez. Os valores discrepantes são retirados do conjunto de dados até que não haja mais nenhum outliers. Desta forma, é possível utilizar a distribuição normal padrão para avaliar o valor e a sua distância relativa. Este método é muito utilizado em laboratórios para a detecção de erros em preparação de amostras e erros em medições, etc (CAMPOS, 2015).

As hipóteses adotadas nesse teste são:

H₀: O dado é considerado um valor extremo

H_A: O dado não é considerado um valor extremo

Critério: Rejeita-se a hipótese nula se o modulo do valor de Z for menor que o valor de Z tabelado

Para verificar a diferença entre as medias dos conjuntos de dados usou-se o teste-t - amostra dupla presumindo variações diferentes. Essa ferramenta de análise testa a igualdade das médias de população com base em cada amostra. Essa forma de Teste-t presume que os dois conjuntos de dados são provenientes de distribuições com variações diferentes (EXCEL, 2016).

As hipóteses adotadas nesse teste são:

H₀: A média 1 não tem diferença da média 2.

H_A: A média 1 tem diferença da média 2.

Critério: Rejeita-se a hipótese nula Se $P(T \leq t)$ bi-caudal for $< 0,05$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal

5.1.1 Umidade

Inicialmente a umidade dos frutos foram determinadas para que os resultados do restante dos testes pudessem ser apresentados em base seca, a qual é a maneira mais comum de se expressar tais valores na literatura, e principalmente porque os resultados em base seca minimizam a questão das diferentes valores de umidades encontrada em diferentes partes dos frutos e entre espécies diferentes dos frutos.

Na Tabela 5 pode-se observar os resultados para a determinação da umidade.

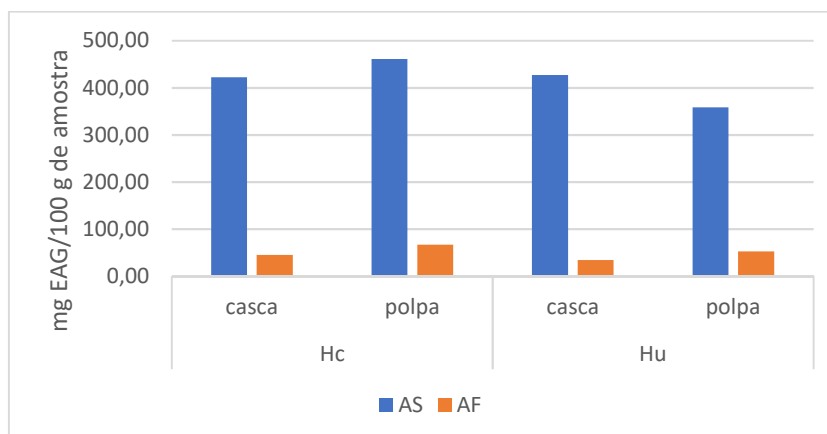
Tabela 5 – Resultados para determinação de umidade

		<i>Hylocereus Undatus</i>	<i>Hylocereus Costaricensis</i>
Umidade (%)	Casca	92,11 ± 0,40 a1	89,39 ± 1,08 a2
	Polpa	85,39 ± 1,24 b1	85,53 ± 0,94 b1

1. DP = Desvio padrão; Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T; Médias na mesma linha seguidas de número diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T. Todos os conjuntos de dados apresentaram distribuição normal e não apresentaram outliers.

A Figura 18 apresenta as diferenças do teor de compostos fenólicos em amostra seca e considerando o conteúdo de umidade em amostra fresca.

Figura 18 – Comparativo da composição fenólica em amostra seca (AS) e amostra fresca (AF)



Os resultados de fenólicos totais quando vistos em amostra fresca mostram que para ambas as espécies de pitaias a polpa apresenta a maior composição fenólica. Entretanto quando os mesmos resultados são vistos em amostra seca, a casca da espécie *Hylocereus Costaricensis* apresenta maior composição fenólica em relação a polpa.

5.1.2 Composição centesimal

Uma vez que as informações básicas nutricionais de um alimento são intrínsecas as suas composições centesimais. A Tabela 6 apresenta os resultados da composição centesimal das duas espécies de pitaias.

Tabela 6 – Resultados para composição centesimal em amostras frescas

		<i>Hylocereus Undatus</i>	<i>Hylocereus Costaricensis</i>
		Casca	Casca
Umidade (%)	Casca	92,11 ± 0,40a1	89,39 ± 1,08a2
	Polpa	85,39 ± 1,24b1	85,53 ± 0,94b2
Cinzas (g/100 g)	Casca	0,45 ± 0,09c1	0,51 ± 0,06c2
	Polpa	0,47 ± 0,04d1	0,46 ± 0,07d1
Proteína (g/100 g)	Casca	1,40 ± 0,59e1	1,02 ± 0,10e2
	Polpa	1,31 ± 0,29f1	1,48 ± 0,28f1
Lipídios (g/100 g)	Casca	0,28 ± 0,09g1	0,31 ± 0,06g2
	Polpa	- -	- -
Carboidratos (g/100 g)	Casca	8,76 ± 0,68i1	6,26 ± 0,41i2
	Polpa	12,95 ± 0,60j1	13,26 ± 0,72j2
Valor calórico kcal/100	Casca	42,05 ± 0,52k1	31,04 ± 0,45k2
	Polpa	55,99 ± 0,15l1	56,59 ± 0,30l2

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T; Médias na mesma linha seguidas de número diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T. Todos os conjuntos de dados apresentaram distribuição normal e não apresentaram outliers

Na tabela 7 pode-se observar os dados obtidos por Nurul e Asmah (2014) para a composição centesimal da polpa de *Hylocereus Costaricensis* cultivadas na Malásia e Austrália.

Tabela 7 – Resultados para composição centesimal segundo Nurul e Asmah (2014) para a *Hylocereus Costaricensis*

	Polpa Malásia	Polpa Austrália
Umidade (%)	85,05 ± 0,11	89,98 ± 0,02
Cinzas (g/100)	0,54 ± 0,01	1,19 ± 0,06
Proteína (g/100)	1,45 ± 0,01	0,41 ± 0,01
Lipídios (g/100)	-	-
Carboidratos (g/100)	12,97 ± 0,11	8,42 ± 0,03
Valor calórico (kcal/100)	62,95 ± 0,45	35,36 ± 0,15

É possível notar a semelhança com os resultados experimentais, mostrando que apesar do cultivo ser realizado em regiões diferentes, as médias são próximas, validando os resultados obtidos.

Quando comparada a outros frutos muito utilizados no dia a dia da população a pitáia apresenta composição interessante do ponto de vista nutricional, segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) a acerola por exemplo, em sua polpa possui uma concentração proteica de 0,90 g/100 g de amostra fresca, e a laranja apresenta 0,80 g/100 g de amostra fresca enquanto a maçã 0,20 g/100 g de amostra fresca. Quando a concentração lipídica é considerada, observa-se, segundo TACO (2011), valores de 0,20 g/100 g de amostra fresca, para a laranja 0,20 g/100 g de amostra fresca e a maçã 0,20 g/100 g de amostra fresca.

Alimentos com baixo teor lipídico e alto teor proteico são vistos como diferenciados dentro de uma dieta, por ser capaz de serem inseridos em sistemas de alimentações restritos e no auxílio e manutenção de perda de peso (KHALILI, 2009).

5.2 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi baseada nos resultados obtidos nos testes de fenólicos totais, flavonoides, DPPH e FRAP (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultados para determinação de atividade antioxidante nas amostras em base seca

		<i>Hylocereus Undatus</i>	<i>Hylocereus Costaricensis</i>
Fenólicos totais mg EAG/100 g	Casca	426,77 ± 20,21 a1	422,21 ± 37,30 a2
	Polpa	358,42 ± 36,28 b1	461,18 ± 36,28 b2
Flavonoides mg EQ g	Casca	13,93 ± 0,91 c1	13,64 ± 0,62 c1

	Polpa	4,77 ± 0,31 d1	5,03 ± 0,10 d2
FRAP PRE [] μmol de Fe(II)/g	Casca	60,63 ± 3,13 e1	29,29 ± 0,76 e2
	Polpa	59,27 ± 2,33 e1	46,21 ± 3,80 f2
DPPH IC50 (mg mL ⁻¹)	Casca	7,48 ± 0,65 g1	9,53 ± 1,05 g2
	Polpa	0,84 ± 0,08 h1	2,03 ± 0,22 h2

1. EAG = equivalente em ácido gálico; 2. AS = Amostra seca; 3. DP = Desvio padrão; 4. EQ = equivalente em quercetina; 5. PRE = Poder redutor equivalente; Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T; Médias na mesma linha seguidas de número diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T. Todos os conjuntos de dados apresentaram distribuição normal e não apresentaram outliers.

Os resultados obtidos representam de uma forma geral os frutos da região de onde foram coletados. Sabe-se que a composição de nutrientes que se encontram em uma determinada espécie depende do solo, da maneira que é cultivado, do clima, entre outros fatores.

5.2.1 Fenólicos totais

Os resultados encontrados em amostra fresca foram de $44,80 \pm 3,96$ mg EAG/100 g de amostra fresca para a casca da espécie *Costaricensis* e $66,75 \pm 5,25$ mg EAG/100 g de amostra fresca para a polpa, enquanto para a espécie *Undatus* a casca apresenta $33,67 \pm 1,59$ mg EAG/100 g de amostra fresca e a polpa $52,36 \pm 5,30$ mg EAG/100 g de amostra fresca. Esses resultados apresentaram grande semelhança com dados da literatura. Segundo Nurliyana et al.(2010), a espécie *Undatus* apresenta em sua polpa 3,75 mg EAG/100 g de amostra fresca enquanto Nurul e Asmah (2014) encontraram valores entre $70,24 \pm 1,65$ e $72,80 \pm 4,80$ mg EAG/100 g de amostra fresca para a espécie *Costaricensis*.

Quando a pitáia é colocada lado a lado com outros frutos em relação a sua atividade antioxidante a mesma mostra resultados satisfatórios. Segundo Fu et. al. (2011), por exemplo, o abacate possui conteúdo de fenólicos totais igual a $21,86 \pm 1,25$ mg GAE/100 g de amostra fresca, enquanto a uva verde apresenta $23,20 \pm 1,58$ mg GAE/100 g de amostra fresca, ou até mesmo frutos com atividade antioxidante usados como referência, como por exemplo a laranja, que possui $61,08 \pm 3,66$ mg GAE/100 g de amostra fresca, e o abacaxi, que apresenta $94,04 \pm 1,47$ mg GAE/100 g de amostra fresca.

Com base nos resultados obtidos, pode-se verificar que em base seca existe uma variação na disponibilidade fenólica entre as espécies de pitáia (Tabela 8). A

espécie *Undatus* possui maior composição fenólica na casca, enquanto a espécie *Costaricences* possui a maior composição fenólica na polpa. Esse fato deixa clara o potencial do uso integral do fruto, onde, por exemplo a casca, muitas vezes é considerado impróprio para o consumo, entretanto possui uma quantidade de nutriente equivalente à da polpa, sendo esse possível de ser consumido como suco ou geleia.

5.2.2 Flavonoides

Alguns fatores mostraram-se importantes nos resultados de flavonoides. Por exemplo as cascas das duas espécies apresentaram valores superiores aos dados das polpas (Tabela 8), ainda a espécie *Undatus* apresentou para a polpa $4,77 \pm 0,31$ mg EQ/ g enquanto a casca obteve $13,93 \pm 0,91$ mg EQ/ g, para a espécie *Costarisensis* obteve-se $5,03 \pm 0,10$ mg EQ/ g enquanto a casca obteve $13,64 \pm 0,62$ mg EQ/ g todos considerando base seca, valores esses muito próximo aos encontrados por por Taganas et. al. (2016), a casca da espécie *Undatus* apresenta $5,71$ mg EQ/ g de amostra seca.

Algumas correlações podem ser vistas nos resultados de flavonoides, por exemplo, as partes (cascas) dos frutos das duas espécies que apresentavam cores mais intensas também apresentaram maiores composições de flavonoides.

Os flavonoides são responsáveis pela coloração de alguns frutos e folhas encontradas na natureza, tanto em questão de tonalidade quanto em intensidade. Segundo o estudo de Lattanzio et al. (2006), foram encontradas correlações entre a distribuição fenólica e alguns mecanismos de proteção em uma série de frutos. Ainda segundo este mesmo autor, alguns tipos de antioxidantes possuem capacidade protetora contra raios solares nocivos ao fruto, e que esses agentes estão presentes em maior concentração nas cascas dos frutos, bem como alguns outros agentes que possuem efeitos envolvendo a reprodução ou ação repelente a insetos, e igualmente esses estão presentes em maior concentração nas cascas dos frutos.

5.2.3 FRAP

Os resultados da avaliação do potencial de redução encontrados em amostra seca foram de $29,29 \pm 0,76$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/g}$ amostra seca para a casca da espécie *Costaricensis* e $46,21 \pm 3,80$ PRE [] $\mu\text{mol de Fe (II)/g}$ de amostra seca para a polpa, enquanto para a espécie *Undatus* a casca apresenta $60,63 \pm 3,13$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/g}$ amostra seca e a polpa $59,27 \pm 2,33$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/g}$ amostra seca.

Em um estudo conduzido com vários frutos, Liu encontrou valores para a maçã, por exemplo, igual a $0,42 \pm 0,05$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/100g}$ amostra fresca, enquanto que para uva o valor foi de $0,07 \pm 0,01$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/100g}$ amostra fresca enquanto a laranja apresenta valor de $0,15 \pm 0,01$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/100g}$ amostra fresca.

O melhor resultado obtido no estudo em amostra fresca foi para a polpa da espécie *Undatus*, a qual apresentou valor de $0,87 \pm 0,03$ [] $\mu\text{mol de Fe (II)/100g}$ amostra fresca.

5.2.4 DPPH

Os dados da análise de DPPH, expressos como % de inibição de 50% do reagente DPPH (IC50), evidenciam que quanto menor o valor de IC50 maior é o potencial antioxidante. Por exemplo, as polpas apresentaram valores melhores em relação as cascas. A espécie *Undatus* mostrou que a casca do fruto possui um valor de IC50 igual a $7,48 \pm 0,65$ mg mL^{-1} , enquanto a polpa obteve $0,84 \pm 0,08$ mg mL^{-1} . Já a espécie *Costaricensis* a casca mostrou um valor igual a $9,53 \pm 1,05$ mg mL^{-1} e a polpa $2,03 \pm 0,22$ mg mL^{-1} .

Segundo Choo e Yong (2011) a espécie *Undatus* mostrou que o conjunto casca + polpa do fruto possui um valor de IC50 igual a $7,48 \pm 0,65$ mg mL^{-1} , enquanto a polpa obteve $0,84 \pm 0,08$ mg mL^{-1} . Já a espécie *Costariensis* a casca mostrou um valor igual a $9,53 \pm 1,05$ mg mL^{-1} e a polpa $2,03 \pm 0,22$ mg mL^{-1} .

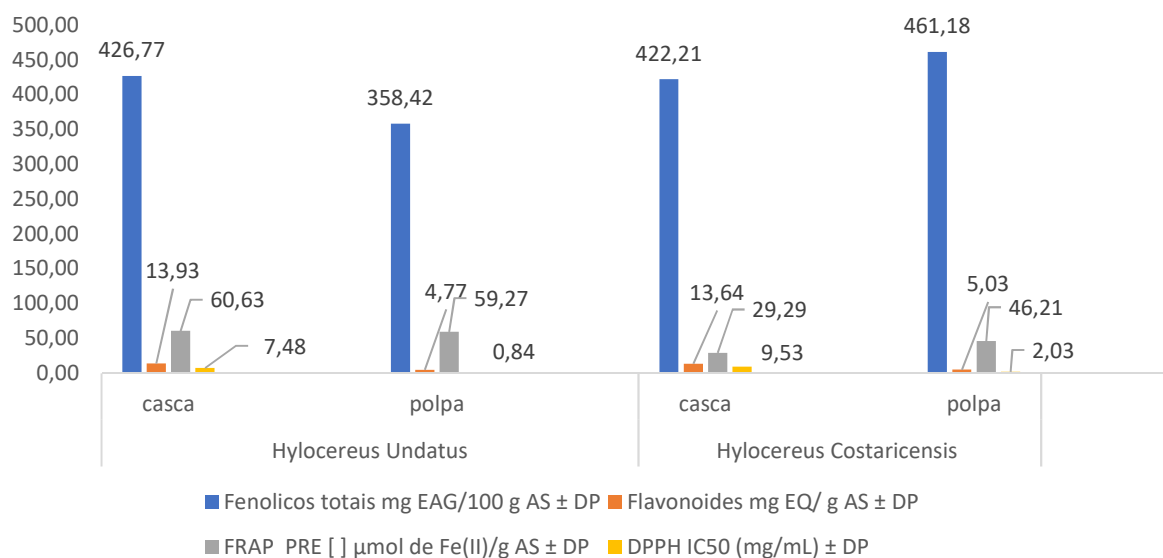
Quando o valor de IC50 é comparado com outros frutos é possível observar o diferencial do fruto baseado nesse teste, por exemplo, segundo Prado (2009), o abacaxi possui na sua polpa um valor de IC50 igual a $7,0 \pm 0,2$ mg mL^{-1} , enquanto a goiaba possui um valor para a polpa de $2,36 \pm 0,09$ mg mL^{-1} e o maracujá $1,62 \pm 0,04$ mg mL^{-1} . Esses valores se aproximam muito do encontrado para a polpa das

duas espécies de pitaiá, sendo que para a espécie *Undatus* todos esses valores ficaram superiores a ele.

5.2.5 Relações entre os resultados obtidos para a atividade antioxidante

A partir da Figura 19, pode-se verificar a correlação entre os resultados quando todos os testes de composição antioxidante são compilados.

Figura 19 – Correlação gráfica entre os resultados obtidos para a atividade antioxidante entre as amostras analisadas



Nota-se que a espécie *Undatus* obteve melhores resultados para FRAP e DPPH, enquanto os resultados para fenólicos totais ficaram em destaque para a espécie *Costaricensis*, evidenciando que nem toda a atividade antioxidante provem de compostos fenólicos, devido a existência de uma série de outros compostos com caráter antioxidante.

Outra observação válida que pode ser feita é em relação a distribuição homogênea dos resultados de fenólicos totais na casca, onde os valores foram próximos, enquanto a polpa apresentou uma distribuição menos desses compostos. Já para o estudo de flavonoides observa-se que a casca apresenta composição majoritária dessas espécies.

5.3 Composição majoritária de flavonoides

Para determinar a composição majoritária de flavonoides, foi utilizado uma mistura de padrões para identificar os compostos de interesse (rutina, quercetina, kaempferol e isorhamnetina). A identificação dos principais flavonoides ocorreu por comparação de padrões, como verificado nas Figuras 20 e 21.

Figura 20 – Cromatograma dos padrões de flavonoides

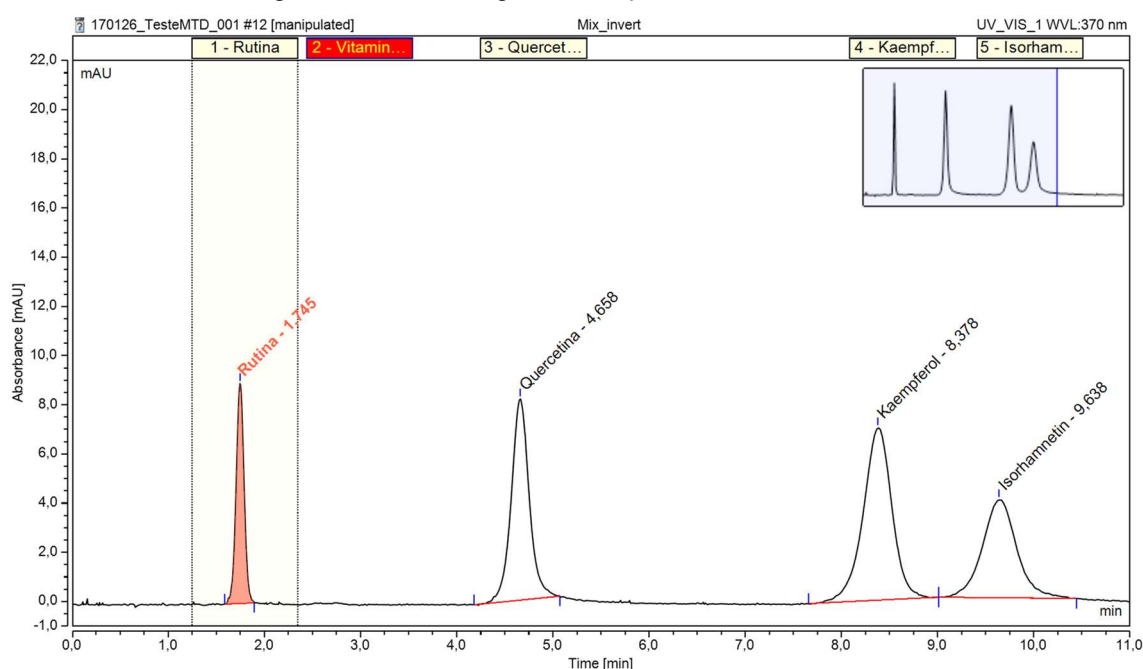
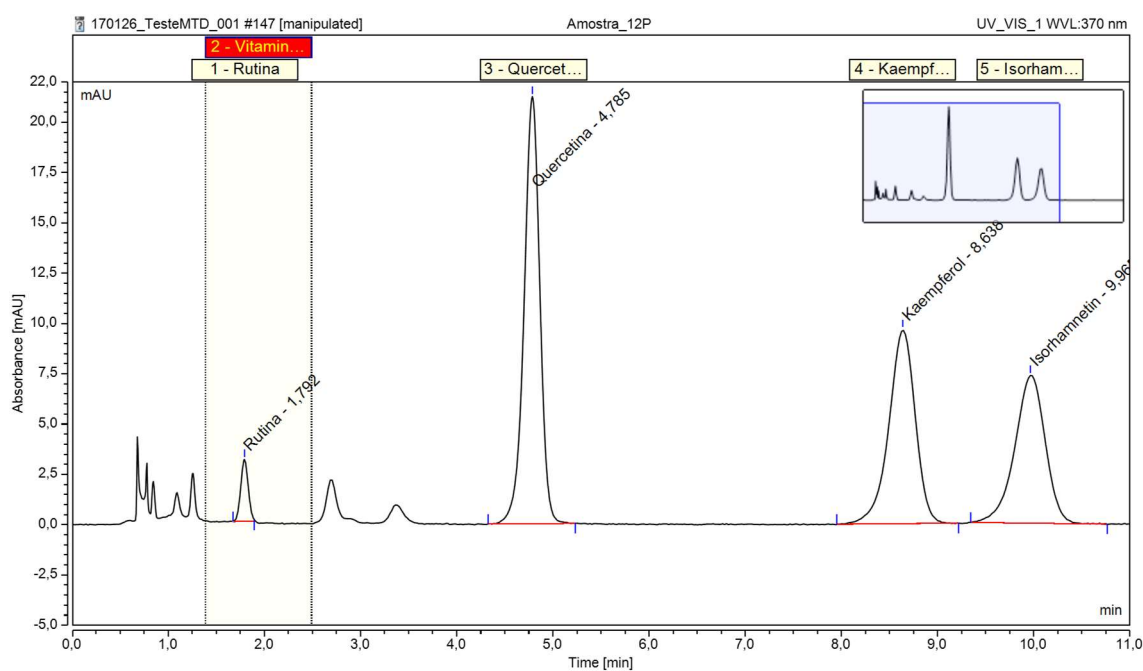


Figura 21 – Cromatograma da composição majoritária de flavonoides na amostra de polpa de pitáia



Segundo informações da Organização de Medicina Alternativa das Filipinas (2016), a composição majoritária de flavonoides da pitiaia é composta de kaempferol, quercetin, isorhamnetina, e kaempferol 3-O-alpha-L-arabinofuranoside. A partir dos resultados obtidos é possível verificar a presença dos três principais compostos citados na literatura.

A partir da biossíntese geral demonstrada por Kanehisa (2013), o kaempferol é a primeira espécie a ser formada das identificadas. A quercetina é formada a partir do kaempferol sendo convertida em rutina e a isorhamnetina. Pelo perfil verificado na Figura 21 nota-se que a conversão do kaempferol em quercetina acontece em maior proporção do que a formação da rutina e isorhamnetina. Outra consideração é sobre a menor formação da Rutina, cuja concentração é menor.

Essas informações dizem muito a respeito das biossínteses que ocorrem no fruto da pitiaia e sobre as enzimas que nelas estão presentes, pois cada uma das conversões dependem de sistemas diferentes e enzimas diferentes.

5.4 Determinação de Ácido Ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi determinado por metodologia analítica em cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção no UV-Vis. Para quantificar foi utilizado padrão com pureza conhecida o qual o tempo de retenção foi determinado e posteriormente a identificação e quantificação foi realizada na amostra. Na Figura 22 pode-se observar o cromatograma da solução padrão e na Figura 23 observa-se o cromatograma da solução amostra.

Figura 22 – Cromatograma representativo do padrão de ácido ascórbico

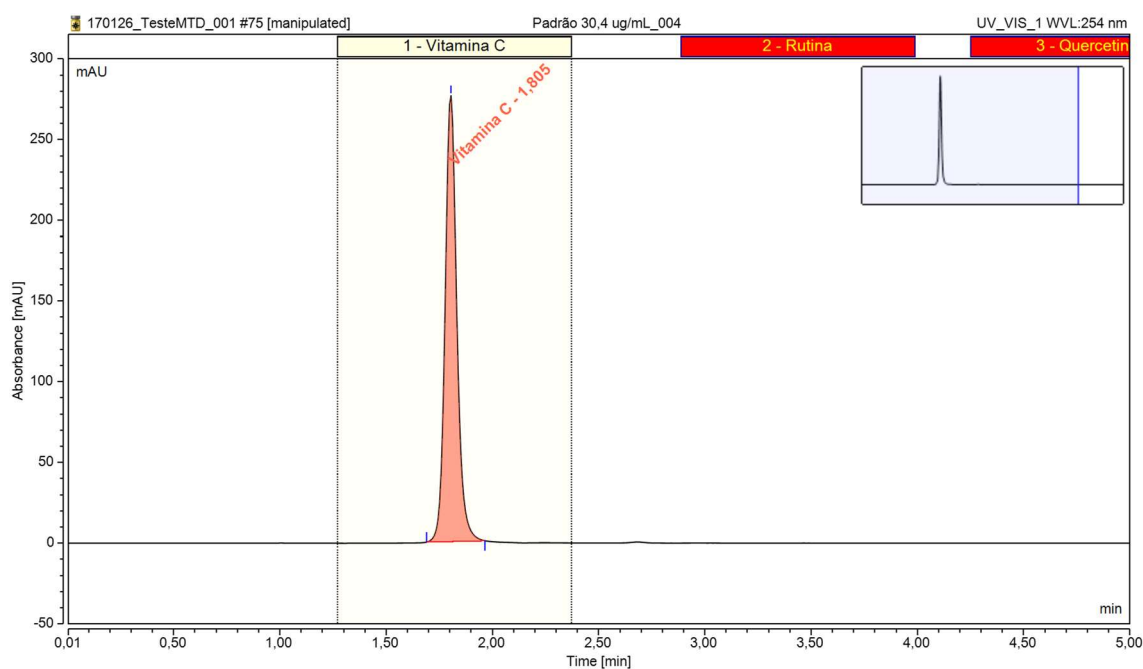
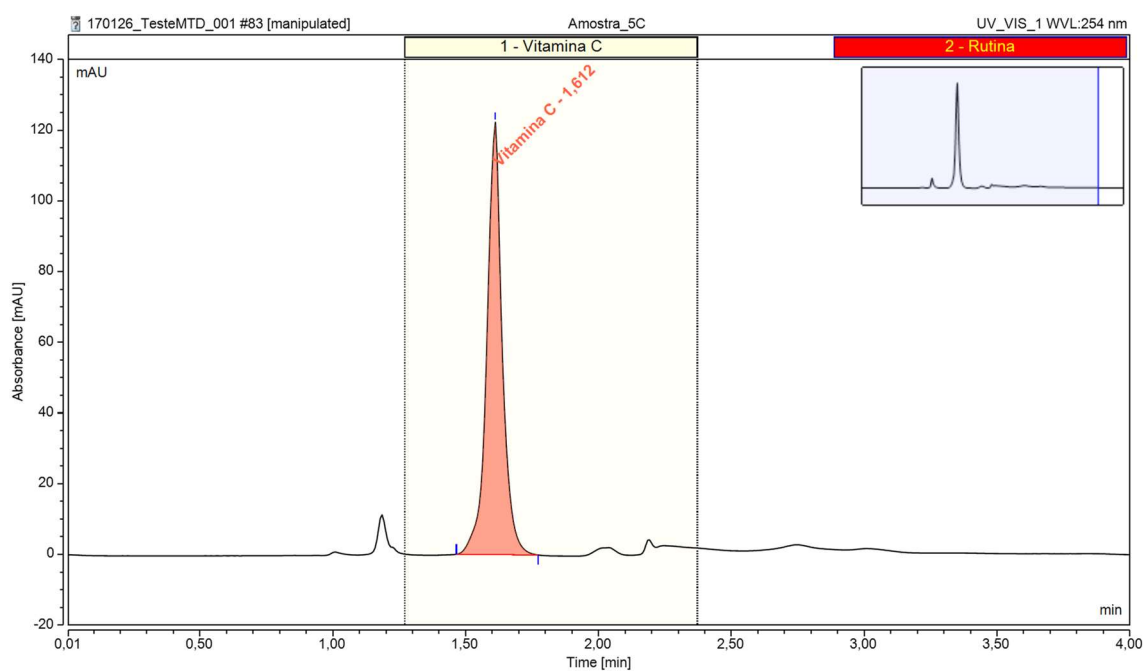


Figura 23 – Cromatograma representativo de ácido ascórbico em amostras de pitaia



A seguir, na Tabela 9, os resultados das quantificações obtidos a partir da equação $y = 4755,9x - 3739,2$, das duas espécies e das duas partes dos frutos são apresentados:

Tabela 9 – Resultados ácido ascórbico

		<i>Hylocereus Undatus</i>	<i>Hylocereus Costaricensis</i>
Ácido ascórbico mg/100 g de AF1 ± DP2	Casca	21,64 ± 1,69 a1	8,03 ± 0,42 a2
	Polpa	28,4 ± 3,44 b1	29,93 ± 0,77 b1

1. AF = amostra fresca; 2. DP = desvio padrão; Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T; Médias na mesma linha seguidas de número diferentes diferem entre si ($p < 0,05$), pelo teste de T. Todos os conjuntos de dados apresentaram distribuição normal e não apresentaram outliers.

Segundo Nurul e Asmah (2014), a polpa do fruto da espécie *Costaricensis* cultivada na Malásia apresentou valor igual a 24,66 mg/100 g de amostra fresca enquanto para o mesmo fruto coletado na Austrália valores de 30,21 mg/100 g de amostra fresca foram encontrados. Para a espécie *Undatus*, Heal with food (2011) cita que o valor encontrado para a polpa é de 20,50 mg/100 g de amostra fresca.

Quando comparado com outros frutos, a pitia se destaca também na quantidade de ácido ascórbico. Segundo informações nutricionais The Natural Food Hub (2001) vários frutos comuns a dieta do ser humano, como por exemplo, a maçã (6,0 mg/100 g de amostra fresca), o abacaxi (15,0 mg/100 g de amostra fresca), maracujá (30,0 mg/100 g de amostra fresca), possuem quantidade de ácido ascórbico menor ou próxima da encontrada na pitia.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos para a atividade antioxidante das duas espécies de pitaias estudadas pode-se verificar que o potencial do fruto para auxílio no combate e prevenção de doenças se justifica devido aos altos teores de antioxidantes encontrados tanto nas polpas quanto nas cascas. Os resultados de atividade antioxidante, bem como ácido ascórbico e flavonoides delinearam o perfil antioxidante dos frutos, sendo possível ver a distribuição das espécies e com isso possibilitar o aprimoramento da pitaias.

Desta maneira, é possível verificar que as partes dos frutos que mostraram a maior concentração de flavonoides foram as cascas, uma parte do fruto que normalmente não é consumida. Foi possível constatar a partir da composição majoritária dos flavonoides observar a presença da rutina, quercetina, kaempferol e isorhamnetina, sendo esses os compostos que tornam a composição de flavonoides tão abundante. Uma vez que os flavonoides são de conhecimento e seus benefícios são muito difundidos, o consumo da casca pode vir a suprir algumas necessidades de ingestão desses compostos. Métodos alternativos de consumo, que não degradem os flavonoides, devem ser propostos para que esse benefício seja aproveitado.

Em relação a outros frutos normais a dieta do ser humano, a pitaias apresenta capacidade antioxidante e teor de ácido ascórbico superiores a muitos frutos, o que demonstra seu potencial para ser incluído na dieta. Esse fator é de especial importância, pois dietas balanceadas pedem mudanças periódicas de variedades de alimentos, tornando o fruto um potencial agente na prevenção de doenças.

Um fruto com altos teores de antioxidantes, vitaminas, baixa concentração de gorduras e calorias, sendo uma grande fonte de água e flavonoides, tornando um fruto promissor para a dieta, necessitando que suas funções sejam mais difundidas e que se torne viável para a introdução na alimentação das regiões mais necessitadas.

Apesar da pouca literatura para comparação, é possível ver que os dados estão de acordo com o que se observa em outros países, levando em consideração que os resultados dependem de vários fatores (por exemplo: clima, forma de plantio, tempo de maturação, entre outros).

REFERÊNCIAS

- Abdrabba, Salem; HUSSEIN, Saltana. Chemical Composition of Pulp, Seed and Peel of Red Grape From Libya. *Global Journal of Scientific Researches*, [S.l.], 30 abr. 2015. 3, p. 6-11.
- Aburto, Nancy J. et al. Effect of increased potassium intake on cardiovascular risk factors and disease: systematic review and meta-analyses. *BMJ Research*, [S.l.], 05 abr. 2013. 1, p. 346-378.
- Ankli A., Sticher, O., Rich, M.H. Yucatec maya medicinal plants versus non medicinal plants: indigenous characterization and selection. *Human Ecology* 27 (4): 557-580. 1999.
- Ariffin, Abdul Azis et al. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food Chemistry*, Serdang, Selangor, Malaysia, 24 jun. 2008. 114, p. 561–564.
- Audera C, PATULNY RV, SANDER BH, DOUGLAS RM. Mega-dose vitamin C in treatment of the common cold: a randomised controlled trial. *Med J Aust*. 2001;175(7):359-362.
- Aziz, F. A., e NOOR, M. M. (2010). Ethanol extract of dragon fruit and its effects on sperm quality and histology of the testes in mice. *Biomedical Research*, 21(2), 126-130.
- Bastos, Débora Costa et al . Propagação da Pitaya 'vermelha' por estaquia. *Ciênc. agrotec.*, Lavras , v. 30, n. 6, p. 1106-1109, Dezembro de. 2006. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542006000600009&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 02 de Oct. 2016.
- Beckman Kenneth B., AMES Bruce N., The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiological Reviews*. Abril de 1998, 78 (2) 547-581.
- Benzie, Iris F.F. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, [S.l.], 31 out. 2016. 136, p. 113–126.
- Boeing, H. et al. Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, [S.l.], 09 jun. 2012. 51, p. 637–663
- Boroski M., Visentaniner J., Cottica S., Morais D., *Antioxidantes princípios e métodos analíticos*. 1 ed., Curitiba, Appris., 2015.
- Butkhup, L. et al. Study of the Phenolic Composition of Shiraz Red Grape Cultivar (*Vitis vinifera* L.) Cultivated in North-eastern Thailand and its Antioxidant and

- Antimicrobial Activity. South African Journal of Enology + Viticulture, [S.I.], 01 jan. 2010. 31, p. 89-98.
- Canter PH, Wider B, Emst E. The antioxidant vitamins A, C, E and selenium in the treatment of arthritis: a systematic review of randomized clinical trials. Rheumatology. 2007;46(8):1223-33.
- Carvalho, H.H.; Jong, E.V.; Bellô, R.M.; Souza, R.B; Terra, M.F. Alimentos: métodos físicos e químicos de análise. Ed. Da Universidade, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.,180p
- Cecchi, H. M. Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos. Ed. da Unicamp. SP. 2003. 207 p.
- Celestino, Sonia Maria Costa. Metodologia Científica: Princípios de secagem de alimentos. EMBRAPA Cerrados. Planaltina, DF: [s.n.], 2010. 16-17 p
- Centro de Pesquisas Meteorológicas e Clíamticas Aplicadas a Agricultura. Climatologia. Climatologia da região de Presidente Prudente. Disponível em: <<http://www.cpa.unicamp.br/>>. Acesso em: 10 out. 2016.
- Chaves, M.H.; Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina “Química Orgânica”. Química Nova, v. 20, n. 5, p. 560-562, 1997.
- Choo J. C., Rhun Yian Koh, Anna Pick Kiong Ling. Medicinal properties of Pitaya: a review. Review Article Spatula DD. 2016; 6(2):0-0
- Choo, Wee Sim; YONG, Wee Khing. Antioxidant properties of two species of Hylocereus fruits. Pelagia Research Library , [S.I.], 11 out. 2011. 2, p. 418-425.
- Chuah, Teong Guan et al. Effects of Temperatures on Rheological Behavior of Dragon Fruit (Hylocereus sp.) Juice. International Journal of Food Engineering, [S.I.], 15 jul. 2008. 7, p. 1-28.
- Collins, C.H.; Braga, G.L. e Bonato, P.S. Introdução a métodos cromatográficos. 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.
- Cruz, Leticia García et al. Physical, Chemical, and Antioxidant Activity Characterization of Pitaya (Stenocereus pruinosus) Fruits. Plant Foods Hum Nutr, [S.I.], 20 out. 2013. 68, p. 403-410.
- Culotta, Valeria Cizewski. Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. In: CULOTTA, Valeria Cizewski. Current Topics in Cellular Regulation. [S.I.]: Elsevier, 2001. p. 117-132. v. 36. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0070213701800054>>. Acesso em: 04 out. 2016.

- Dauchet, L., et. al. Fruit and Vegetable Consumption and Risk of Coronary Heart Disease: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *J. Nutr.* 136: 2588–2593, 2006.
- Dinkova K., Albená T.; TALALAY, Paul. Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. *Natural Products and Dietary Prevention of Cancer*, [S.I.], 10 mar. 2008. 52, p. 128-138.
- Edward, A. F. Distinctive Features of Cacti. In: ANDERSON, Edward F.; BARTHLOTT, Wilhelm; BROWN, Roger. *The Cactus Family*. 1. ed. Portland, Oregon 97204, U.S.A.: Timber Press, Inc., 2001. cap. 1, p. 15-39. v. 1.
- Esquivel, P., Stintzing F. C., Carle R. Pigment pattern and expression of colour in fruits from different *Hylocereus* sp. genotypes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 8 (3): 451-457. 2007
- Food, Nutrition, and Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. Disponível em: <<http://www.wcrf.org/int/research-we-fund/continuous-update-project-cup>>. Acesso em: 04 out. 2016.
- Fu L., Bo-Tao Xu, Xiang,. Xu, Ren Gan, Yuan Zhang, En-Qin Xia, Hua-Bin Li. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129 (2011) 345–350.
- General Assembly, United Nations. Outcome document of the high-level meeting of the General Assembly on the comprehensive review and assessment of the progress achieved in the prevention and control of non-communicable diseases. Disponível em: <<http://www.who.int/nmh/events/2014/a-res-68-300.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2016.
- General Assembly, United Nations. Political Declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. Disponível em: <<http://www.un.org/en/ga/ncdmeeting2011/>>. Acesso em: 04 out. 2016.
- Gutteridge, John M.C; Halliwell, Barry . Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000: A Historical Look to the Future. *Annals new York Academy of Sciences*, New York, 30 nov. 2000. 899, p. 136–147.
- Gray D. Evaluation of a Method to Determine Flavonol Aglycones in Ginkgo biloba Dietary Supplement Crude Materials and Finished Products by High-Performance Liquid Chromatography. *J AOAC Int.* 2007 ; 90(1): 43–53.
- Halliwell, Barry. Antioxidants in Human Health and Disease. *Annual Review of Nutrition*, United Kingdom, 08 jul. 1996. 16, p. 33-50.
- Hartley, Louise et al. Increased consumption of fruit and vegetables for the primary prevention of cardiovascular diseases. *Cochrane Heart Group*, [S.I.], 04 jun. 2013. 10, p. 1-39.

- Heal With Food - Dragon Fruit: Nutritional Value, Health Benefits and Calorie Count. 2011. Disponível em: <http://www.healwithfood.org/nutrition-facts/dragon-fruit-nutritional-health-benefits.php#ixzz4bzjxRFQd>. Acessado em 21 de março de 2017.
- He, Feng J.; Nowson, Caryl A.; Macgregor, Graham A. Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies. *Lancet*, [S.l.], 28 jan. 2006. 367, p. 320-326.
- Isissigma. Anderson-Darling Normality Test. 2017. Disponível em <https://www.isixsigma.com/dictionary/anderson-darling-normality-test/>. Acessado em 22 de março de 2017.
- Jimenez, Jara Pérez et al. Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Clermont-Ferrand, France, 19 mar. 2010. 56, p. 4959–4969.
- Kanehisa L., Flavonoids Biosynthesis - 2013. Disponível em <http://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00941.png>. Acessado em 01 abril 04 de 2017.
- Khiem, Hung. Development of HPLC methods for the determination of water-soluble vitamins in pharmaceuticals and fortified food products. Clemson University – TigerPrints. All Theses. Paper 1745. 2013.
- Khalili, Mohd Adzim et al. Hypocholesterolemic effect of red pitaya (*Hylocereus* sp.) on hypercholesterolemia induced rats. *International Food Research Journal*, [S.l.], 15 jul. 2009. 16, p. 431-440.
- Kim, H., Choi, H.K., Moon, J.Y., Kim, Y.S., Mosaddik, A., Cho, S.K. Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *Journal of Food Science* 76(1): 38-45. 2011
- Latif A. Z, Haque, M. Shanmugasundaram, C., Mahadeva-Rao, U.S. Clinical study of preventive potentials of consumption of Buah naga [Cactaceae] against paracetamol– induced hepatotoxicity as well as the other associated biological effects. *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* 2 (1):16-23. 2012
- Lattanzio, Vincenzo et al. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects . In: *Phytochemistry: Advances in Research*. Kerala, India: Research Signpost, 2006. cap. 2, p. 23-67. Disponível em: http://trnres.com/ebook/uploads/imperato/T_1231133597Imperato-2.pdf. Acesso em: 03 out. 2016.

- Lim, Stephen et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, [S.I.], 15 dez. 2012. 280, p. 2224-2260.
- Lim, Y.Y; Lim, T.T.; Tee, J.J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, [S.I.], 03 ago. 2006. 103, p. 1003–1008.
- Liu C., et. al. Antioxidant Capacities and Main Reducing Substance Contents in 110 Fruits and Vegetables Eaten in China. *Food and Nutrition Sciences*, 2014, 5, 293-307
- Lindsay, David G. European research on the functional effects of dietary antioxidants – EUROFEDA. In: LINDSAY, David G.; ASTLEY, Siân B. *Molecular Aspects of Medicine*. Colney, Norwich NR4 7UA, UK: Pergamon, 2002. cap. 1, p. 1-38. v. 23.
- Lough, W.J. e Wainer, I.W. *High Performance liquid chromatography: fundamental principles and practice*. Blackie Academic and Professional, 1995.
- 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*, [S.I.], 03 ago. 2014. 8, p. 1-7.
- Maldaner, Liane; Collins, Carol H.; Jardim, Isabel C. S. F.. Fases estacionárias modernas para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. *Quím. Nova*, São Paulo , v. 33, n. 7, p. 1559-1568, 2010.
- Manach, C. et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.*, [S.I.], 08 out. 2005. 1, p. 230-242.
- McCord, Joe M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine*, [S.I.], 01 jul. 2000. 108, p. 652–659.
- Mohd Adzim Khalili, R., Norhayati, A. H, Rokiah, M. Y., Asmah, R., Siti Muskinah, M., Abdul Manaf, A. Hypocholesterolemic effect of red pitaya (*Hylocereus* sp.) on hypercholesterolemia induced rats. *International Food Research Journal* 16: 431-440. 2009.
- Neves, Carolina; Domiciano, Fernanda. Pesquisas com a cultura da pitaya são desenvolvidos pela APTA. Disponível em: <http://www.apta.sp.gov.br/noticia_apta.php?id=4725>. Acesso em: 11 out. 2016.
- Nurliyana, R. et al. Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: a comparative study. *International Food Research Journal*, [S.I.], 31 out. 2010. 17, p. 367-375.

- Nurul, S. R.; ASMAH, R. Variability in nutritional composition and phytochemical properties of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) from Malaysia and Australia. *International Food Research Journal*, [S.l.], 02 mar. 2014. 21, p. 1689-1697.
- Omidzadeh A. et. al. Cardioprotective compounds of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) fruit. *Journal of Food Agriculture and Environment* 9(3&4):152-156 · Novembro de 2010
- Organização de medicina alternativa das filipinas. Pitaya *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose. Disponível em <<http://www.stuartxchange.com/DragonFruit.html>>. Acessado em 29/03/2017
- Patthamakanokporn, Oruma et al. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, [S.l.], 03 out. 2016. 21, p. 241–248.
- Prado, Adna. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. Universidade de São Paulo, Trabalho de defesa de mestrado. São Paulo 2009.
- Ribeiro, S. M. R et al. Antioxidants in mango (*Mangifera indica*, L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 62, n. 1, p. 13-17, 2007.
- Rufino, Maria do Socorro Moura et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). EMBRAPA. Fortaleza, CE: [s.n.], 2006. 1-4 p.
- Shaghghi, Mandana Amir; ABUMWEIS, Suhad S.; JONES, Peter J.H. Cholesterol-Lowering Efficacy of Plant Sterols/Stanol Provided in Capsule and Tablet Formats: Results of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the Anaemy of Nutrition and Dietetics*, Canada, 10 jun. 2013. Volume 113, numero 11, p. 1494-1503.
- Singleton V.L.; Rossi, J.A. "Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents," *Phenolics Determination*, pp. 144-158, vol. 16, No. 3, Sep. 1965.
- Informativo Bimestral da Siqueira Campos Associados. Catálogo de Cursos 2015 Treinando a sua equipe para aumentar a competitividade da sua empresa. Disponível em http://www.siqueiracampos.com/pdf/news/news_25.pdf. Acessado em 22 de março de 2017
- Stintzing, F.C.; Schieber, A.; Carle, R., Evaluation os color proprieties and chemical quality parameters of cactus juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 216-303, 2003.
- Strack, Dieter; Vogt, Thomas; Scheliemann, Willibald. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, [S.l.], 05 out. 2003. 62, p. 247–269.

- Streppel, M.T et al. Dietary fiber and blood pressure: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Arch Intern Med*, [S.I.], 24 maio 2005. 165, p. 150-156.
- 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*, [S.I.], 27 out. 2016. 34, p. 27-62.
- Surh, Y.J. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer*, [S.I.], 03 out. 2003. 10, p. 768-780.
- Taco, Tabela brasileira de composição de alimentos. Versão II. 4 ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.
- Taganas, W. R.; et. at.. Total Flavonoids, Total phenolics and Vitamin C: Indicators of the Antioxidant Potentials of Selected Fruits Peels. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, [S.I.], 02 fev. 2016. 4, p. 161-164.
- Talalay, P.; FAHEY, J.W. Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *Journal of Nutrition*, [S.I.], 13 nov. 2001. 11, p. 27-33.
- Tenore, G.C., Novellino, E., Basile, A. Nutraceutical potential and antioxidant benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal of Functional Foods* 4 (1): 129-136. 2012
- Thaipong, Kriengsak et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, [S.I.], 12 nov. 2006. 19, p. 669–675.
- The Natural Food Hub. Natural food-Fruit Vitamin C Content. 2001. Disponível em http://www.naturalhub.com/natural_food_guide_fruit_vitamin_c.htm, acessado em 21 de março de 2017
- Whelton, S.P et al. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J Hypertens*, [S.I.], 23 mar. 2005. 3, p. 475-481.
- WHO, World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/en/>. Acesso em: 11 out. 2016.
- WHO, World Health Organization. Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020. Disponível em: http://www.who.int/nmh/events/ncd_action_plan/en/. Acesso em: 11 out. 2016.

- WHO, World Health Organization. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country. Disponível em: <
http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/en/>. Acesso em: 11 out. 2016.
- WHO. Guideline: Potassium intake for adults and children. Geneva, World Health Organization (WHO), 2012.
- Brand, W; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, [S.I.], 28 maio 1994. 28, p. 25-30.
- Winifred M. CORT. Antioxidant Properties of Ascorbic Acid in Foods. Hoffmann-LaRoche, Inc., Kingsland Road, Nutley, NJ 07110. June 1, 1982
- Wu, L. C., Hsu, H.W., Chen, Y.C., Chiu, C. C., Lin, Y.I., Annie, Ho J. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food Chemistry 95(2): 319-327. 2006
- Yu, Danxia et al. Fruit and Vegetable Intake and Risk of Coronary Heart Disease: Results from Prospective Cohort Studies of Chinese Adults in Shanghai. Br J Nutr, [S.I.], 28 jan. 2014. 111, p. 353–362.
- Zhang, Y. et al. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc Natl Acad Sci U S A, [S.I.], 15 abr. 2017. 6, p. 239-403.