

MICHELLE CRISTINA JERONIMO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CITOTÓXICOS DA PITAIA-VERMELHA [*Hylocereus
undatus* (Haw.) Britton & Rose] CULTIVADA NO BRASIL**

BRASÍLIA, 2016

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MICHELLE CRISTINA JERONIMO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICO-QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CITOTÓXICOS DA PITAIA-VERMELHA [*Hylocereus
undatus* (Haw.) Britton & Rose] CULTIVADA NO BRASIL**

**Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde pela Universidade de Brasília.**

Orientador: Profa. Dra. Maria Rita Carvalho Garbi Novaes

Co-Orientador: Profa. Dra. Joice Vinhal Costa Orsine

BRASÍLIA, 2016

Aos meus amados Ezequiel e Pietra.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me acompanhar de me dar forças quando muitas vezes quis fraquejar.

Aos meus pais, Jair e Marta, que mesmo de longe sempre me ouviram, apoiaram, ajudaram dando força e carinho, por me amarem.

Aos meus irmãos Vanessa e Thiago, por dividirem comigo os bons e maus momentos desta caminhada.

À minha orientadora Dra. Maria Rita Carvalho Garbi Novaes, por quem tenho grande admiração e respeito. Agradeço pelas oportunidades concedidas, confiança, ensinamentos e orientação.

À querida Professora Dra. Joice Vinhal Costa Orsine que me acompanha desde a graduação, pelo incentivo e total apoio.

À minha grande amiga e parceira Mara Núbia Guimarães dos Santos que me ofereceu uma ajuda preciosa no começo da realização do projeto. Por toda dedicação, companheirismo e cumplicidade.

À Professora Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda da Universidade Federal de Goiás por permitir a realização de algumas etapas da pesquisa no Laboratório de Biologia Molecular, e em especial aos queridos Hugo e Raquel por todo apoio, ajuda, ensinamento e paciência que tiveram comigo. Vocês foram fundamentais!

Ao meu querido e amado esposo Ezequiel, por acreditar nos meus sonhos, por ser o meu maior incentivador e que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades, e não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

À minha doce Pietra, que esteve comigo todos os dias desde o início dessa grande jornada.

À banca examinadora que, gentilmente, aceitou o convite para participar da defesa desta dissertação.

Muito obrigada.

RESUMO

Estudos acerca dos cactos dos gêneros *Hylocereus* da América Tropical e Subtropical ainda são escassos. O cultivo e consumo de diferentes espécies e variedades da pitiaia (*Hylocereus undatus*) podem representar uma fonte de diversificação da atividade agrícola por serem espécies que agregam a rusticidade de cultivo e a beleza dos frutos uma composição rica em compostos bioativos, trazendo benefícios à saúde da população. As atribuições funcionais dadas a essa fruta incitam ao estudo das suas características físicas, químicas, nutricionais, farmacológicas e toxicológicas. Objetivou-se com o presente estudo, avaliar as características químicas, físico-químicas, atividade antioxidante, efeitos citotóxicos e determinar o perfil dos ácidos graxos dos frutos (polpa e casca) de pitiaia vermelha (*Hylocereus undatus*), cultivada no Brasil. Por meio das análises realizadas constatou-se que a polpa da pitiaia apresenta elevado teor de umidade (86,03%) e baixo teor de lipídeos (0,16%) e proteínas (2,27%), o que garante um baixo valor (53,68) calórico da fruta. Dentre os minerais, destacaram-se o potássio (3,090 mg/100g), manganês (2,230 mg/100g), cromo (1,250 mg/100g), sódio (0,140 mg/100g), cálcio (0,040 mg/100g) e, em menor concentração, o fósforo (0,003 mg/100g). Já a atividade antioxidante da polpa (1.266,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) da pitiaia apresentou-se inferior à de sua casca (445,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Em relação a atividade citotóxica os resultados mostraram que o extrato da casca de pitiaia vermelha é antiproliferativo na concentração (2.156 mg. mL^{-1}). Na porção oleosa da fruta, observou-se que o ácido graxo predominante é o ácido linoleico (50,869% do total de ácidos graxos da fruta), seguido do ácido oleico (21,551%) e do ácido palmítico (12,632%). A capacidade antioxidante e as características químicas da pitiaia podem contribuir na promoção da qualidade de vida devido ao potencial de ações benéficas à saúde humana.

Palavras-chave: pitiaia vermelha, *Hylocereus undatus*, potencial antioxidante, compostos bioativos.

ABSTRACT

Studies about the cacti of the genera *Hylocereus* Tropical and Subtropical America are scarce. Cultivation and consumption of different species and varieties of pitaia (*Hylocereus undatus*) may represent a source of diversified agricultural activity since these species contain rich bioactive compounds that add a rustic beauty to the cultivation of the fruit in addition to the benefits they bring to the health of the population. The functional attributes assigned to this fruit, prompt the need to study its physical, chemical, nutritional, pharmacological and toxicological characteristics. The objective of the present study was to evaluate the chemical and physical-chemical properties, antioxidant activity and the fatty acid profile of the red pitaia fruit (pulp and peel) [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose], grown in Brazil. These analyses have shown that pitaia pulp has high moisture content (86.03%) and low lipid (0.16%) and protein (2.27%) content, which ensures a low fruit calorie value (53.68%). Among the highlighted minerals are potassium (3.090 mg/100g), manganese (2.230 mg/100g), chromium (1.250 mg/100g), sodium (0.140 mg/100g), calcium (0.040 mg/100g) and, at lower concentrations, phosphorus (0.003 mg/100g). On the other hand, the antioxidant activity of pitaia pulp (1266.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) was lower than in the pitaia peel (445.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$). For cytotoxicity results showed that the red dragon fruit peel extract is antiproliferative in the concentration (2.156 mg.mL⁻¹). In the fatty portion of the fruit, we verified that the predominant fatty acid is linoleic acid (50.869% of total fatty acids in the fruit), followed by oleic acid (21.551%) and palmitic acid (12.632%). The antioxidant potential and the chemical properties of pitaia fruit can contribute to maintaining a healthy diet.

Keywords: red pitaia, *Hylocereus undatus*, antioxidant potential, bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Frutos de pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*)
- Figura 2 Aspecto do fruto e da polpa da pitaia branca
- Figura 3 Flores de pitaia (*Hylocereus undatus*)
- Figura 4 Casca de pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*) liofilizados
- Figura 5 Valores de EC₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos aquosos de casca e polpa de pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*)
- Figura 6 Efeito do extrato da casca de pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*) sobre a viabilidade celular de células Sarcoma 180 após 48 horas

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Análise físico-químicas da polpa de pitaiia vermelha (*Hylocereus undatus*)
- Tabela 2 Minerais presentes na pitaiia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil
- Tabela 3 Ácidos graxos presentes na polpa da pitaiia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil
- Tabela 4 Relação dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 da polpa da pitaiia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADM	adriamicina
AGS	adenocarcinoma gástrico
AGS	ácidos graxos saturados
ATCC	american type Culture Collection
B16F10	linhagem celular de melanoma
Bcap-37	linhagem celular de câncer de próstata humano
CA	capacidade antioxidante
CBA	compostos bioativos
DCNT	doenças crônicas não-transmissíveis
DNA	ácido desoxirribonucleico (do inglês, deoxyribonucleic acid)
DPPH	radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
HeLa	linhagem de adenocarcinoma humano de câncer cervical
MCF-7	adenocarcinoma de mama humano
MGC-803	linhagem celular de câncer gástrico humano
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio
NF-Kappa B	fator nuclear kappa b
PC3	linhagem celular de câncer de próstata humano
PPAR- γ	receptor ativado por proliferadores de peroxissomos – γ
STZ	estreptozotocina
S180	tumor intraperitoneal ascítico de camundongo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.2 O BRASIL E AS FRUTAS	14
2.3 A PITAIA	14
2.4 COLHEITA E PÓS COLHEITA DA PITAIA.....	17
2.5 ASPECTOS NUTRICIONAIS, FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DA PITAIA	19
2.6 PESQUISAS RELACIONADAS À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA PITAIA.....	21
2.7 COMPOSTOS BIOATIVOS X CÂNCER.....	22
3. OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	27
4.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS DA PITAIA.....	28
4.3 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS.....	29
4.4 DETERMINAÇÃO DO PERFIL MONO E POLIINSATURADOS	29
4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL DPPH	30
4.6 ENSAIO DA VIABILIDADE CELULAR PELO MÉTODO COLORIMÉTRICO DE MTT	31
4.6.1 Obtenção do Extrato (Liofilização)	31
4.6.2 Viabilidade celular avaliada pelo ensaio de MTT	32
4.6.3 Análise Estatística	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Análise físico-químicas da pitiaia vermelha (<i>Hylocereus undatus</i> Haw)	33
5.2 Determinação de minerais.....	37
5.3 Determinação de ácidos graxos	38
5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA E CASCA DA PITAIA VERMELHA.....	40
5.5 VIABILIDADE CELULAR AVALIADA PELO ENSAIO DE MTT	42
6. CONCLUSÃO	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

1. INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais e plantas medicinais sob os mais diversos tipos de combinação, com o intuito de tratar diversas enfermidades é uma das práticas medicinais mais antigas da humanidade e que vem se fortalecendo cada vez mais na medicina moderna (1). O uso de plantas com substâncias farmacologicamente ativas usufrui de uma posição respeitável até os dias de hoje, sendo bastante investigadas por pesquisadores que atuam no desenvolvimento de novos fármacos fitoterápicos.

Diversos estudos têm mencionado as propriedades antioxidantes dos sucos de frutas e polpas de frutas comestíveis (2). Todavia existem poucas informações disponíveis sobre o valor medicinal e nutricional dos frutos subtropicais, especialmente sobre as espécies mais exóticas. Aliados a evolução da ciência e ancorados na divulgação das propriedades nutricionais dos alimentos e suas potenciais ações benéficas à saúde humana, precavendo e tratando doenças, as frutas tropicais exóticas têm sido consideradas promotoras da saúde e peças-chave na promoção da qualidade de vida (3,4).

A pitiaia é uma fruta rústica, que pertence à família Cactaceae, conhecida mundialmente como "Fruta-do-Dragão", por apresentar uma casca vermelho brilhante com aletas verdes sobrepostas, abrangendo o fruto (5). Conforme a espécie, seus frutos podem apresentar características diversificadas, como formato, presença de espinhos, cor da casca e da polpa, refletindo em alta variabilidade genética (6). Apresenta elevado potencial funcional relativo a pigmentos como betacianinas e betaxantinas, que estão envolvidos em processos de prevenção ao câncer por possuírem atividade antioxidante, intervindo principalmente na prevenção do melanoma, tipo maligno de câncer de pele, que possui elevada probabilidade de metástases para outros órgãos (7).

Estudos realizados com pitiaia têm relatado suas propriedades funcionais, auxiliando na redução do risco de doenças crônicas (8,9). Na polpa, foi identificada a presença de antioxidantes, tais como flavonoides e betalainas, e oligossacarídeos com propriedades prebióticas (10,11,12). A casca também apresenta compostos

antioxidantes, especialmente as betalaínas (13), suas sementes são ricas em ácidos graxos essenciais e fitoesteróis (14).

A capacidade de um composto ou alimento em coibir a proliferação das células cancerígenas é um elemento desejável na progressão do câncer. A função de nutrientes antioxidantes na etiologia do câncer continua em discussão, visto que estes nutrientes possuem importante função estrutural e atuam como cofatores de diversas enzimas (15). Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho realizar a caracterização química, físico-química, a atividade antioxidante, determinação do perfil de ácidos graxos e avaliação dos efeitos citotóxicos da polpa e da casca da pitiaia vermelha [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] cultivada no Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.2 O BRASIL E AS FRUTAS

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, posicionando atrás somente da China e Índia (16). De acordo com Kist (2012), o Brasil teve produção estimada em 42.101 milhões de toneladas no ano de 2011, sendo este valor referente apenas a 20 espécies de frutas (17). Contudo, o potencial do Brasil para a fruticultura é, ainda, maior em função da grande área territorial e das boas condições climáticas, que favorecem o plantio de espécies de clima tropical, subtropical e temperado e situações especiais que permitem produzir o ano todo (16).

O consumo de frutas no Brasil, segundo dados do Ministério da Agricultura foi de 125 kg. pessoa.ano⁻¹, em 2009. Em alguns países da Europa e América do Norte o consumo médio de frutas é de 140 e 150 kg. pessoa.ano⁻¹, respectivamente. Embora os dados brasileiros encontrem-se distante do desejável, a crescente conscientização sobre os benefícios à saúde assegurados pela ingestão regular de frutas tem retratado em aumento da demanda por frutas frescas (18).

A introdução de frutas nas práticas alimentares diárias abriu espaço para consumo de diferentes espécies frutíferas, inclusive as exóticas, que possuem sabor diferenciado e interessante conteúdo de minerais, fibras e compostos antioxidantes. Dentre as várias opções de espécies frutíferas exóticas com boas perspectivas de comercialização, encontra-se a pitaia, cactácea nativa das florestas tropicais da América Central e do Sul, Índia e Malásia (19, 20).

2.3 A PITAIA

No Brasil, a pitaia é pouco conhecida, porém desde a década de 90 fruticultores brasileiros investem no seu plantio comercial, principalmente, da espécie *Hylocereus undatus*, pitaia vermelha de polpa branca (21).

São pequenas as áreas de produção da fruta no Brasil, estando localizadas principalmente no Estado de São Paulo, mais especificamente na região de

Catanduva. Entretanto, devido ao maior consumo de frutas exóticas e ao seu valor comercial, surgiu interesse por parte dos fruticultores no plantio e cultivo desta frutífera. Na região Sudeste, a produção dos frutos ocorre durante os meses de dezembro a maio (21).

Uma das principais alternativas para diversificação da propriedade rural e aumento de renda do produtor é o cultivo da pitaia. Mesmo apresentando um elevado custo de implantação do pomar, os preços cotados para a pitaia têm sido um atrativo para potenciais produtores, especialmente no mercado internacional, onde a fruta pode atingir US\$ 22,00/kg nos EUA e € 19,90/kg na Alemanha, embora no Brasil o valor máximo de R\$ 60,00/kg também seja um atrativo (22).

A fruta denominada pitaia é uma cactácea originada da América Tropical e Subtropical e pertence ao grupo de frutíferas consideradas promissoras para cultivo no Brasil. Até há pouco tempo essas frutíferas eram desconhecidas e, recentemente, representam um crescente nicho no mercado de frutas exóticas, devido a apreciação das características organolépticas da pitaia quando consumidas cruas ou inseridas na gastronomia (Figura 1) (23).



Figura 1. Frutos de pitaia (*Hylocereus undatus*).

Segundo Le Bellec et al. (2006), a pitáia pode ser agrupada em quatro gêneros botânicos: *Stoneocereus* Briton & Rose, *Cereus* MiLL., *Selenicereus* (A. Beger) Riccob e *Hylocereus* Briton e Rose (24). A variabilidade das espécies está relacionada, principalmente, com o tamanho e coloração dos frutos e tempo de produção (25). As espécies mais encontradas e comercializadas são: *Selenicereus megalanthus*, pitáia amarela de polpa branca, conhecida como “pitáia colombiana”; *Hylocereus polyrhizus*, pitáia de casca e polpa vermelha; *Hylocereus undatus*, pitáia vermelha de polpa branca (26). A espécie *Selenicereus setaceus*, também conhecida como pitáia do cerrado, é comumente encontrada no Brasil, apresenta frutos pequenos com espinhos (Figura 2) (27).

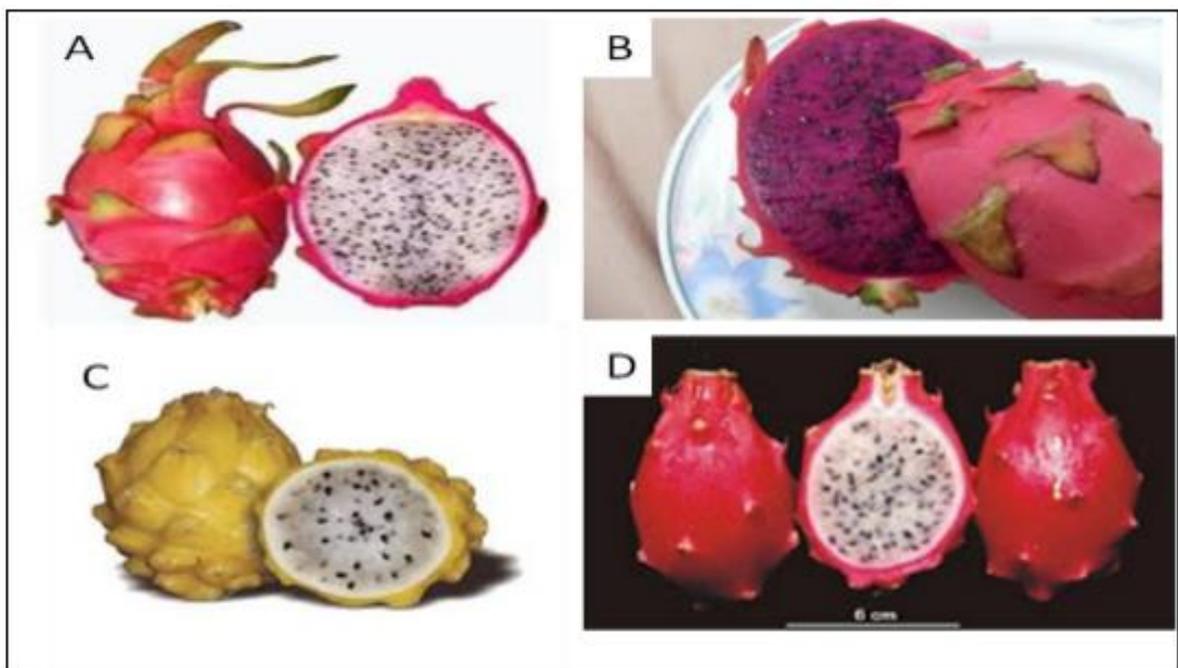


Figura 2. Aspecto do fruto e da polpa da pitáia branca (*Hylocereus undatus*) (A); pitáia de polpa e casca vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) (B); pitáia amarela (*Selenicereus megalanthus*) (C) e pitáia do cerrado (*Selenicereus setaceus*) (D).

Fonte: Moreira et al. (2011).

Como estas espécies estão presentes em vários países, são conhecidas por diversos nomes como *dragon fruit*, *pitahaya*, pitáia, *Honolulu Queen*, *liang tian chi*, *strawberry pear*, *red pitáia* e pitáia (28).

O fruto da pitiaia é uma baga, tamanho médio, formato globuloso e subglobuloso, exibindo coloração externa verde quando imatura e amarela ou vermelha quando madura. O fruto é envolto por brácteas e algumas espécies apresentam espinhos em sua casca (29).

A polpa da pitiaia é delicada, suculenta, com inúmeras sementes escuras comestíveis de, aproximadamente, 3 mm de diâmetro. Apresenta paladar doce e consistência gelatinosa quando madura, geralmente sendo consumida *in natura* ou podendo, ainda, ser processada na forma de sorvetes, sucos, geleia, vinhos e salada (30). Em algumas regiões da América do Sul, a polpa é usada em bebidas, como ocorre com sucesso em restaurantes paulistas, onde é servida em pedaços, juntamente com o champagne (31). Já a casca da pitiaia de coloração vermelha, possui grande potencial para ser utilizada como pigmento natural, devido à presença de betacianina, além da interessante atividade antioxidante desse pigmento (32, 33).

Da mesma maneira como ocorre com outras frutas provenientes de cactos, a pitiaia tem propriedades que favorece o processo digestivo. As pitaias têm uma grande quantidade de pigmentos vermelhos do grupo das betalaínas, compostos estes com propriedades antioxidantes e que estão associados a menor incidência de câncer e ataques cardíacos. Diversos estudos recentes têm comprovado os efeitos plurifarmacológicos dos compostos antioxidantes (bactericida, antiviral, antialérgico, antitrombótico, anti-inflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, vasodilatador), despertando grande interesse principalmente por sua alta prevalência nas dietas, já que são compostos onipresentes nos vegetais (34, 35).

2.4 COLHEITA E PÓS COLHEITA DA PITAIA

A pitiaia é uma planta perene e que comumente cresce sobre árvores ou pedras, tem raízes fibrosas, abundantes e desenvolve também numerosas raízes adventícias, que ajudam na fixação e na obtenção de nutrientes; os cladódios são triangulares, suculentos e apresentam espinhos com 2 mm a 4 mm de largura. A flor é hermafrodita, de coloração branca, grande (mede cerca de 20 a 30 cm de largura) e abre durante a noite (Figura 3). Os frutos são vermelhos externamente, muito atrativos ao consumidor, com polpa esbranquiçada, de sabor agradável, levemente

adocicado, apresentando um grande número de diminutas sementes, de coloração preta (19).



Figura 3. Flores de pitáia (*Hylocereus undatus*)

Fonte: Lorenzi, 2006.

A colheita do fruto, usualmente, ocorre quando atinge a maturação completa, de 30 a 40 dias posteriormente a abertura da flor, estágio no qual a casca adquire coloração de rosa a vermelho intenso, polpa branca, com textura, ainda firme (25).

Estudos pós colheita revelam que a pitáia é um fruto tropical que, em condições ambientais, deteriora-se com relativa facilidade e, em resultado, a vida útil pós colheita para comercialização é curta, aproximadamente de seis a oito dias em temperatura ambiente (29). Estudos realizados por Hoa e colaboradores em 2006 mostram que a vida útil do fruto sem uso de nenhum tratamento químico, poderá ser de até dez dias (36).

Em trabalho realizado por Sim e colaboradores (2013), os autores mostraram que a *Salmonella* spp. poderia crescer em pitaias recém-colhidas sob condições de armazenamento inadequadas, o que indica que os cortes de frutas frescas poderiam funcionar como um veículo potencial para a salmonelose (37). Sendo assim, o estudo realizado pelos autores sugeriu que os cortes da pitáia frescos (minimamente processados) devem ser armazenados em temperatura de 4 °C para garantir a

segurança alimentar do produto, bem como para estender a vida de prateleira de frutas recém-colhidas.

2.5 ASPECTOS NUTRICIONAIS, FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DA PITAIA

A pitáia é uma fruta que desponta com grande potencial de aproveitamento na culinária brasileira, podendo ser utilizada em geleias, sucos, sorvetes, doces ou apreciada *in natura* (26). Suas propriedades nutricionais e cor de polpa única fazem com que a pitáia se torne uma matéria-prima atraente para vários tipos de bebidas, incluindo bebidas alcoólicas ou não alcoólicas. (38).

A polpa da pitáia apresenta sabor levemente adocicado, o que desperta a atenção dos mais exigentes consumidores. A fruta é considerada altamente nutritiva, com alto teor de água, minerais e açúcares, compostos antioxidantes e de baixo valor calórico (39). A pitáia vermelha é rica em potássio, fibras e antioxidantes (38).

Um estudo realizado por Luo e colaboradores em 2014 identificaram 24 componentes no extrato de dióxido de carbono supercrítico obtido por cromatografia gasosa e espectrometria de massa da casca de *H. polyrhizus*, sendo que 90,66% destes foram identificados, dos quais 29,77% eram triterpenóides e 16,46% eram esteroides (40). No extrato de *H. undatus* foram identificados 92,82% dos compostos químicos presentes, dos quais 23,39% eram triterpenóides e 19,32% eram esteroides. Estes compostos químicos encontrados em plantas possuem atividades anti-câncer e anti-HIV (41).

Além da importância nutricional, a pitáia possui aplicação na indústria farmacêutica e de cosméticos (39). Antigamente, os povos mayas tradicionalmente utilizavam as folhas e flores de *H. undatus* para fins hipoglicêmicos, como agente diurético e cicatrizante (42). Segundo Dam (2009), o fruto da pitáia é rico em vitaminas, auxilia no processo digestivo e segundo conhecimento popular, tem efeito benéfico em gastrites, é preventivo contra o câncer de cólon e diabetes, ajuda a neutralizar substâncias tóxicas como metais pesados, reduz os níveis de colesterol e as altas pressões do sangue, além dos cladódios e as flores serem usados contra problemas renais (43).

Perez e colaboradores em 2005 estudaram as propriedades de cura de ferida dos extratos aquosos de folhas, casca, polpa de frutas e flores de *H. undatus*, e observaram os efeitos positivos de todas as partes da fruta na cicatrização dos ratos. Nos animais diabéticos, a cura geralmente ocorre com atraso, e as aplicações tópicas de *H. undatus* produziu aumento significativo de hidroxiprolina, resistência à tração, proteínas totais, conteúdo de colágeno DNA e melhor epitelização facilitando assim a cicatrização (44). Neste estudo, os autores não observaram atividade hipoglicêmica de *H. undatus*.

Em estudo realizado por Wu e colaboradores (2006), os autores avaliaram a atividade antiproliferativa de pitaia vermelha em células de melanoma, determinando se a fruta poderia ser considerada como um bom agente anti-câncer. Os resultados encontrados pelos autores indicaram a atividade antiproliferativa sobre células de melanoma B16F10, revelando que os componentes químicos da casca da pitaia apresentavam-se como um inibidor mais forte do crescimento de células cancerosas de melanoma B16F10 do que os componentes químicos presentes na polpa (7).

Anand e colaboradores (2010) realizaram um trabalho *in vivo* que avaliou as propriedades vasculares do extrato aquoso do fruto da *H. undatus* em ratos diabéticos induzido por estreptozotocina (STZ), e concluíram que a administração do extrato da pitaia aumentou a proteção da aorta em ratos nos quais a diabetes foi induzida por STZ (45).

A toxicidade potencial do extrato metanólico da pitaia foi avaliada por Hor e colaboradores em 2012, por meio da administração aguda e sub-crônica em ratos. No estudo de toxicidade aguda, doses individuais do extrato da fruta (1250, 2500 e 5000 mg / Kg) foram administrados aos ratos por sonda oral, e os animais foram então monitorizados durante 14 dias. No estudo de toxicidade sub-crônica, o extrato de fruta foi administrado por via oral a ratos em doses de 1250, 2500 e 5000 mg / Kg / dia durante 28 dias. Os autores não observaram mortalidade ou sinais de toxicidade aguda ou sub-crônica, nem qualquer diferença significativa no peso corporal, peso dos órgãos ou parâmetros hematológicos no estudo sub-crônico. Também não foi observada nenhuma anormalidade de órgãos internos entre os grupos de tratamento e de controle, sendo que a dose oral letal do extrato da pitaia foi determinada maior do que 5000 mg / Kg, e a dose sem efeitos observáveis

adverso do extrato para ratos machos e fêmeas considerada foi de 5000 mg / Kg por dia durante 28 dias (46).

Nos estudos realizados por Luo e colaboradores (2014), os autores utilizaram o teste do MTT (3-(4 5-dimethylthiazol-2-yl)-2 5-diphenyl tetrazolium bromide) para determinar a atividade citotóxica do extrato de dióxido de carbono supercrítico obtido por cromatografia gasosa e espectrometria de massa da casca de *H. polyrhizus* e de *H. undatus* em linhagem celular tumoral PC3 (linhagem celular de câncer de próstata humano), Bcap-37 (linhagem celular de câncer de mama humano) e MGC-803 (linhagem celular de câncer gástrico humano). Os autores utilizaram como controle positivo a adriamicina (ADM). Os autores observaram, após 72 horas de contato dos extratos com as células, a inibição da proliferação celular dose-dependente (40).

2.6 PESQUISAS RELACIONADAS À ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA PITAIA

A redução da incidência de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, acidente vascular cerebral, cancro, e doenças relacionadas com o envelhecimento é atribuída à presença de componentes antioxidantes em frutas e legumes. Esses antioxidantes são capazes de preservar o equilíbrio correto oxidantes/antioxidantes devido a um excesso de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que podem levar ao chamado "estresse oxidativo" (47).

O consumo de alimentos como fonte de substâncias antioxidantes é um dos mecanismos de defesa mais importantes contra os radicais livres, uma vez que as moléculas antioxidantes endógenos não são eficazes o suficiente para neutralizar os danos causados por ROS, especialmente nos tempos atuais, em que os estilos de vida baseados em fumo, drogas, álcool, dieta desequilibrada, poluição e exposição incorreta à radiação solar podem facilitar a formação de radicais livres. Por esta razão, aumentar a ingestão de antioxidantes na dieta é de grande importância para gozar de boa saúde (48).

Diversas pesquisas vêm sendo conduzidas no intuito de investigar a presença de compostos com atividade antioxidante em frutos da pitiaia, mas ainda são escassas as informações (49). Estudos apontam que a pitiaia é rica em antioxidantes e betacianina e que as espécies da família Cactaceae são fonte de betaninas,

filocactinas, hilocereninas, betacianinas com 5-O-glicosídeos e 6-O-glicosídeos (12, 50).

Wu e colaboradores (2006) verificaram em seus estudos que os conteúdos fenólicos totais da polpa e da casca da pitáia são semelhantes, assim como o conteúdo de flavonóides, o que indica que a polpa e a casca da fruta apresentam-se ricas em polifenóis e são boas fontes de antioxidantes (7).

Kim e colaboradores (2011) investigaram a atividade antioxidante, a ação de polifenóis totais e flavonóides, contra vários radicais livres das polpas e cascas de pitaias brancas e vermelhas de origem coreana. Os autores verificaram em seu estudo que o conteúdo de polifenóis e flavonóides do extrato metanólico da casca de pitáia vermelha e da casca de pitáia branca foram de aproximadamente três e cinco vezes maiores do que o conteúdo desses antioxidantes na polpa de pitáia vermelha e na polpa de pitáia branca, respectivamente. Os autores conseguiram ainda identificar a presença de compostos fenólicos, os derivados do ácido hidroxicinâmicos, glicosídeos, flavonóides betacianina e seus derivados, além ainda de alguns compostos desconhecidos.

2.7 COMPOSTOS BIOATIVOS X CÂNCER

Recomendações amparadas por discursos científicos sobre o que comer são frequentemente divulgadas pelas organizações de saúde e meios de comunicação de massa, sendo que estas recomendações podem influenciar os hábitos de muitos indivíduos e caracterizar um novo estilo de vida para muitas pessoas (52). É sabido que uma dieta habitual fornece, além dos macro e micronutrientes essenciais, alguns compostos químicos, presentes em sua maioria em frutas e hortaliças, e que exercem uma potente atividade biológica, já comprovada por vários pesquisadores. Esses compostos são chamados de fitoquímicos e mais recentemente de compostos bioativos e podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana (53, 54).

O consumo de compostos bioativos, presentes em frutas e vegetais, auxilia na prevenção de processos degenerativos diminuindo a incidência e a taxa de mortalidade por câncer ou doenças cardiovasculares, por exemplo. A prevenção que

as frutas e os vegetais promovem contra estas patologias tem sido atribuída à ação de antioxidantes presentes nestes alimentos (55). A constatação de que dietas ricas em vegetais, como a da população mediterrânea contemporânea e da população asiática, reduzem o risco das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) impulsionou pesquisas que identificaram substâncias nutrientes e não nutrientes atuantes em alvos fisiológicos específicos e que, dessa forma, interferem nos processos patogênicos dessas doenças (56).

Essas evidências resultaram, entre outras coisas, em mudanças nas recomendações dos guias alimentares, os quais passaram a indicar a ingestão de maior número de porções de frutas e de hortaliças na dieta (56, 57). Alimentos de origem vegetal são fontes de energia, proteína, vitaminas e minerais e a única ou principal fonte de vitamina C, folato, fibras e compostos bioativos (CBAs), dos quais o metabolismo humano também é dependente.

Em um novo paradigma, a ingestão insuficiente de CBAs provenientes de vegetais constitui importante componente de risco das DCNT (Doenças crônicas não transmissíveis), contribuindo na mesma magnitude do consumo excessivo de energia e de gorduras totais e saturadas na dieta. Isso indica que os CBAs, da mesma forma que os demais nutrientes, são essenciais para que se atinja a carga completa (geneticamente determinada) de longevidade. Segundo esse novo paradigma, as DCNT seriam doenças relacionadas também à deficiência de substâncias “essenciais para a longevidade” (58, 59). O aumento da ingestão de ácidos graxos saturados (AGS) pela dieta favorece a ativação da resposta inflamatória e, conseqüentemente, o aumento do risco para DCNT (60), já que os AGS estimulam a via de sinalização do fator de transcrição denominado fator nuclear kappa B (NF- κ B), que resulta no aumento da expressão de genes que codificam para proteínas envolvidas na resposta inflamatória.

Os CBAs presentes nos alimentos podem agir de diferentes formas, tanto no que se refere aos alvos fisiológicos como aos seus mecanismos de ação. A ação antioxidante, comum nesses compostos, por exemplo, deve-se ao potencial de óxido-redução de determinadas moléculas, à capacidade dessas moléculas em competir por sítios ativos e receptores nas diversas estruturas celulares ou, ainda, à modulação da expressão de genes que codificam proteínas envolvidas em

mecanismos intracelulares de defesa contra processos oxidativos degenerativos de estruturas celulares (DNA, membranas) (61).

Como existem em grande número, eles podem ser subdivididos em grupos com milhares de compostos distintos. Algumas substâncias são próprias de alguma espécie ou gênero de plantas, outras são unidas por um complicado critério de classificação.

Atualmente, grande atenção tem sido dada a estratégias preventivas e, neste contexto, a utilização de alimentos funcionais com compostos quimiopreventivos parece contribuir muito neste processo, atuando com mecanismos de ação anticarcinogênicos, antioxidantes, antiinflamatórios, antiangiogênicos (62, 63). A pitáia têm recentemente atraído muita atenção, não só por causa da sua notável cor e valor econômico, mas também pelas suas propriedades fisiológicas (64).

Alguns autores relataram diversos benefícios à saúde, incluindo a quimioprevenção do câncer, ação anti-inflamatória e efeitos antidiabéticos, com redução no risco da mortalidade de doenças cardiovasculares (8, 65), bem como propriedades antioxidantes conferidas pelo seu conteúdo de betacianina (12). A capacidade de um composto ou alimento em inibir a proliferação das células cancerígenas é um fator desejável na progressão do câncer. A função de nutrientes antioxidantes na etiologia do câncer continua em discussão, visto que estes nutrientes possuem importante função estrutural e atuam como cofatores de diversas enzimas (66).

Em estudo realizado por Asmah e colaboradros em 2008, os autores relataram que as polpas de *H. polyrhizus* (pitáia vermelha) e *H. undatus* (pitáia branca) são ricas em polifenóis e apresentam elevado potencial antioxidante. Somado a isso, demonstraram que o extrato etanólico da polpa de pitáia vermelha mostrou-se um promissor antioxidante, com efeitos anti-proliferativos na linhagem HeLa (linhagem de adenocarcinoma humano de câncer cervical) (67). Outro estudo mostrou ainda que a pitáia vermelha mostrou citotoxicidade em células metastáticas de câncer bucal (68).

Diferenças de atividade antiproliferativa podem ainda variar dependendo da forma de utilização do alimento e das partes utilizadas no preparo dos extratos potencialmente bioativos. Extratos da polpa de pitáia branca e vermelha mostraram

elevada atividade antiproliferativa nas linhagens de câncer AGS (carcinoma humano gástrico) e MCF-7 (adenocarcinoma de mama humano), sendo estes efeitos superiores à polpa (51). Outro estudo revelou que componentes da casca da pitaiá apresentaram forte inibição na proliferação de células cancerosas de melanoma (B16F10), sendo este efeito maior para a polpa quando comparado à casca. Os resultados indicaram que a polpa e a casca eram ricos em polifenóis e boas fontes de compostos antioxidantes (7). Estes resultados sugerem que tanto a polpa como a casca, da pitaiá branca e vermelha, podem ser ingredientes úteis nas áreas de alimentos, cosmética, aplicações nutracêuticas, e farmacêutica (56).

Uma sequência programada de acontecimentos leva à eliminação de células sem causar danos adjacentes aos tecidos, sendo o processo de apoptose o responsável por manter as células saudáveis, eliminando o excesso ou células anormais. Alterações na coordenação desse tipo de morte celular estão implicadas na tumorigênese. Apesar da enorme variabilidade do câncer, evidências demonstram que a resistência à apoptose é uma das características mais marcantes da maioria dos tumores malignos. A apoptose na prática clínica é alvo para um potencial uso terapêutico da morte celular programada ou para a compreensão dos mecanismos de resistência à radioterapia e à quimioterapia (69).

Muitas são as moléculas envolvidas no controle das vias de ativação da apoptose, dentre estas, as proteínas antiapoptóticas e pró-apoptóticas, além das caspases. As caspases (cysteine-dependent aspartate-specific proteases) pertencem à família das cisteínas proteases (possuem uma cisteína no sítio ativo) que têm a capacidade de reconhecer e clivar substratos que possuam resíduos de aspartato. As caspases sinalizam para a apoptose e clivam esses substratos levando à condensação e fragmentação nuclear, externalização de fosfolípidios de membrana que irão sinalizar para estas células serem fagocitadas por macrófagos. São conhecidas 14 caspases humanas, sendo que seis (caspases -3, -6, -7, -8, -9, -10) participam da apoptose. As caspases -1, -4, -5, 11, -12, -13, -14 estão envolvidas na maturação de citocinas, e sua contribuição na apoptose permanece não esclarecida (70). Caspases promovem apoptose por: (a) indução de enzimas destrutivas, como DNases; (b) liberação de citocromo C via Bcl-2 proteínas da família; e (c) destruição das principais proteínas estruturais e regulatórias (71).

O extrato etanólico de antocianinas, substâncias presentes na pitáia, mostrou induzir apoptose significativamente em células de ratos epiteliais esofágicas neoplásicas junto ao aumento da expressão de caspases 3 e 7. Estes dados estão de acordo com outros estudos, indicando que a indução de apoptose é um mecanismo de ação potencial quimiopreventivo (72, 73). O controle do ciclo celular é um dos outros fatores determinantes nos processos de desenvolvimento de células, diferenciação celular e tumorigênese. As células cancerosas normalmente perdem a capacidade de regular o ciclo celular e de controlar seu índice de proliferação. Um passo limitante no ciclo celular, que é frequentemente não regulado em células cancerosas, é a progressão de células pela primeira fase do ciclo (G1) (74).

Extratos de pitáia mostraram inibir significativamente o crescimento do câncer em células PC3 (câncer de próstata humano), Bcap-37 (câncer de mama humano), e MGC-803 (câncer gástrico humano). O autor também mostrou a alta capacidade antioxidante do extrato (40). Estudos recentes relataram estudar a ação de antocianinas sobre os ativadores dos receptores proliferadores dos peroximas γ (PPAR γ), como um potencial alvo para a prevenção e tratamento do câncer em humanos. Vários estudos têm sugerido que as antocianinas presentes em extratos botânicos podem modificar o metabolismo da glicose e dos lipídeos com aumento de transcrição dos PPARs levando a uma redução de fatores de risco para diabetes, doenças cardíacas e câncer (75, 76).

Os trabalhos realizados no Brasil e no mundo com a pitáia ainda são escassos, tendo sua participação como alimento funcional ainda limitada. Sendo assim, há necessidade de mais estudos sobre a utilização dessa fruta na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, tais como câncer.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os possíveis efeitos citotóxicos e antioxidantes de uma variedade de pitáia vermelha *Hylocereus undatus*, cultivada em Brasília-DF, de forma a determinar os benefícios alimentares e terapêuticos em humanos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar a análise físico-química, e determinar o potencial antioxidante da pitiaia vermelha *Hylocereus undatus*.

Hipótese: Segundo estudos, o tipo de substrato, o composto utilizado, o processamento pós-colheita, as condições climáticas, o local de cultivo, influenciam na alta diversidade genética de pitiaia vermelha da espécie *Hylocereus undatus* (77).

2. Determinar o potencial antioxidante da pitiaia vermelha *Hylocereus undatus*.

Hipótese: Estudos relatam os diversos benefícios do consumo da pitiaia vermelha *Hylocereus undatus*, a fruta é considerada rica em compostos antioxidantes (38).

3. Quantificar os minerais e ácidos graxos presentes na pitiaia vermelha *Hylocereus undatus*.

Hipótese: Estudos comprovam os inúmeros benefícios da ingestão da pitiaia vermelha *Hylocereus undatus*, a fruta é considerada altamente nutritiva, rica em fibras e antioxidantes (38).

4. Determinar os possíveis efeitos citotóxicos por meio do método colorimétrico MTT 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium.

Hipótese: Estudos comprovam a inibição da proliferação celular em diversas linhagens cancerígenas após a realização de estudos *in vitro* utilizando a casca e a polpa da pitiaia vermelha *Hylocereus undatus* (40).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

As amostras de frutas *in natura* de pitiaia vermelha *H. undatus* foram obtidas diretamente de um produtor da cidade de Brasília-DF. Os frutos foram selecionados quanto à aparência e ausência de injúrias, podridões e odor

característico de deterioração, sendo mantidos sob refrigeração, até o momento de sua utilização.

Os frutos foram higienizados com água corrente, detergente neutro e hipoclorito de sódio ($200,0 \text{ mg L}^{-1}$). Posteriormente, retirou-se a casca e a polpa da pitiaia, sendo estas armazenadas em sacos plásticos de polietileno em temperatura de congelamento (-18°C), até o momento de realização das análises.

4.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS DA PITAIA

Na polpa dos frutos foram analisados: umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, fibra bruta e carboidratos. A determinação da umidade foi realizada utilizando-se o método de estufa a 105°C e a determinação das cinzas foi realizada pelo método de calcinação da amostra em mufla a 500°C por doze horas. Para determinação do teor de proteínas, foi utilizado o método de Kjeldahl, e, para a determinação de lipídeos, foi utilizado o método de extração em aparelho de Soxhlet. A metodologia para a avaliação de fibras totais baseou-se na digestão enzimática da amostra, e a determinação de carboidratos foi realizada por diferença, utilizando os resultados obtidos nas análises de umidade, resíduo mineral fixo, proteínas e lipídios, seguindo metodologia proposta pela AOAC (2012) (78).

Para o cálculo do valor calórico total, empregaram-se os seguintes fatores: quatro para proteínas e carboidratos e nove para lipídeos, conforme metodologia descrita por Ferreira e Graça (1983) (79). O potencial hidrogeniônico (pH) foi realizado de acordo com a metodologia nº 017/ IV do Instituto Adolfo Lutz (2008), por processo eletrométrico, em água (80).

Os açúcares redutores (glicose) e os não redutores (sacarose) foram quantificados baseados no método de Somogyi e Nelson (1944) adaptado por Pereira e Campos (1999) (80, 81). As leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-VIS, em comprimento de onda de 510 nm. Foram realizadas ainda análises de acidez total titulável (AOAC, 2012); sólidos

solúveis (AOAC, 2012); ácido ascórbico (vitamina C) baseado em reação redox (AOAC, 2012) (78).

4.3 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS

Para a determinação dos minerais foi utilizado a técnica de espectrofotometria de absorção atômica (Espectrofotômetro GBC Brand, Modelo 932AA), em duplicata, no laboratório de análises físico-químicas do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Foi realizada a pesquisa de alumínio, arsênio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, cádmio, cálcio, ferro, fósforo, magnésio, manganês, mercúrio, níquel, potássio, selênio, sódio e zinco, de acordo com a presença de lâmpadas de catodo específicas para cada mineral. Na determinação de sódio e potássio, utilizou-se fotometria de chama, em fotômetro (Modelo DM-6, Marca DIGIMED). Os resultados foram expressos calculando-se a média dos valores obtidos em cada análise.

4.4 DETERMINAÇÃO DO PERFIL MONO E POLIINSATURADOS

O perfil completo de ácidos graxos foi realizado no Centro de Pesquisa e Análise de Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (CPA – EV – UFG). Todas as análises foram realizadas em duplicata e o resultado foi expresso como média dos resultados.

A extração do óleo para a análise de ácidos graxos da polpa de pitaia vermelha seguiu metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959) e a identificação qualitativa e quantitativa dos mesmos seguiu o protocolo de Visentainer e Franco (2006). O extrato etéreo da polpa de pitaia vermelha foi submetido à técnica de metilação dos ácidos graxos, conforme a metodologia descrita por Antoniosi Filho (1995), e a transesterificação seguiu técnica de Maia (1990) (83, 84, 85).

Para quantificação e determinação dos ácidos graxos, foi utilizado cromatógrafo gasoso Focus (Modelo Focus GC Finningan), equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida Restek RT 2560 de 100 mm de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno, contendo 0,2 µm. Como gás de arraste foi utilizado o hidrogênio, à vazão de 2,0 mL por minuto, e os gases *make up* usados para manutenção da chama do detector foram o ar sintético, hidrogênio e nitrogênio a 300, 30 e 28mL por minuto, respectivamente. O volume de injeção foi de 1µL e o *split* à razão de 2:98. O tempo de retenção, área dos picos e valores de porcentagem relativa de área (método de normalização) foram obtidos utilizando-se o Software Chrom Quest 4.1. A identificação e quantificação dos ácidos graxos (%) foram realizadas utilizando-se curva de calibração feita com auxílio de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma – F.A.M.E. Mix C4-C24).

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SEQUESTRANTE DO RADICAL DPPH

As análises de atividade antioxidante foram realizadas em triplicata, na polpa de pitaiá vermelha e também na casca, no laboratório de análises físico-químicas do Instituto Federal Goiano – Câmpus de Urutaí. O potencial antioxidante foi determinado conforme metodologia proposta por Borguini (2006), por meio da avaliação do extrato aquoso não fracionado da amostra, utilizando o método do DPPH (2,2-difenilpicril-hidrazil), seguindo técnica descrita por Brand-Williams *et al.*, (1995) (86). Utilizou-se espectrofotômetro UV-VIS marca Spectrum, modelo SP 2000 UV, em comprimento de onda de 517 nm para efetuar as leituras. Para avaliar a atividade antioxidante, os valores observados no espectrofotômetro foram inseridos na fórmula:

$$\% \text{ descoloração} = \{1 - [\text{Abs. amostra} + \text{Abs. branco amostra}] / \text{controle} \times 100\}$$

A atividade antioxidante das amostras foi avaliada nos tempos 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 e 20 minutos após o início da reação com o DPPH.

4.6 ENSAIO DA VIABILIDADE CELULAR PELO MÉTODO COLORIMÉTRICO DE MTT

4.6.1 Obtenção do Extrato (Liofilização)

O extrato utilizado neste trabalho foi liofilizado no Laboratório de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (UFG). Foi selecionado para o teste o extrato da casca da pitiaia, pois não houve resultados positivos em relação a liofilização da polpa (Figura 5).



Figura 4. Casca de pitiaia vermelha *Hylocereus undatus* liofilizadas

As cascas foram colocadas em placas de Petri, com capacidade de 30mL, sendo submetidas ao congelamento em ar estático, em congelador rápido (Irinox, Modelo M.HCM 141/50) à temperatura de -40°C . Para desidratar a casca congelada da pitiaia vermelha foi utilizado liofilizador (Liobrás, Modelo LP510) à temperatura de -50°C e vácuo parcial de $38\ \mu\text{m Hg}$. O tempo médio para a liofilização das amostras foi de 72 horas. Após a retirada do liofilizador, as amostras foram maceradas para a obtenção dos pós.

Em seguida, os pós liofilizados foram acondicionados em frascos âmbar, e mantidos em ambiente hermético até a realização da análise de avaliação da viabilidade celular pelo ensaio de redução do MTT.

4.6.2 Viabilidade celular avaliada pelo ensaio de MTT

O Método colorimétrico com 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium (MTT) descrito por MOSMANN (1983) foi utilizado para avaliar a viabilidade celular da linhagem tumoral Sarcoma 180. Este método consiste em mensurar indiretamente a viabilidade celular pela atividade enzimática das hidrogenases mitocondriais. As células vivas transformaram o MTT em azul de formazan. As células foram expostas aos extratos por 48 horas (87).

O ensaio MTT foi realizado no Instituto de Ciências Biológicas I (ICB I) no laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás.

Para a realização dos ensaios biológicos, as células foram mantidas com meio RMPI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 µg / mL de penicilina, e 100 µg / ml de estreptomicina.

Para avaliar a citotoxicidade foram plaqueadas 1×10^5 células de linhagens tumorais Sarcoma 180 (S180) tumor intraperitoneal ascítico de camundongo (ATCC TIB-66) em microplacas de 96 poços e realizado o tratamento com o extrato nas concentrações em diluição seriada (0,06 – 2,00 mg.mL⁻¹). Os extratos foram diluídos em 200 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,1% e 800 µL de meio RPMI resultando numa concentração final de 2,0 mg.ml⁻¹. Após plaqueamento foram incubadas em uma incubadora humidificada (Thermo Scientific) a 37 °C em 5% de CO₂, por 48h. Para a avaliação citotóxica frente à linhagem celular, foi utilizada a linhagem Sarcoma 180 (tumor intraperitoneal ascítico de camundongo - ATCC número: TIB-66).

Após incubação, foram adicionados aos poços de cultivo celular 10 µL de MTT na concentração de 5 mg.mL⁻¹, e após três horas de incubação, foram acrescentados 50 µL de SDS a 10% diluído em HCL/0,01N. A quantificação da densidade óptica (DO) foi realizada via espectrofotometria (Awareness Technology INE/ Stat Fax 2100). A porcentagem de viabilidade celular foi determinada pela

fórmula: % Viabilidade = Absorbância do Tratamento/Absorbância do controle negativo*100. O valor de IC₅₀ (concentração em µM que inibe 50% da viabilidade celular) foi determinado por meio da curva dose resposta utilizando o programa estatístico GraphPad Prism 4.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

4.6.3 Análise Estatística

Para a análise dos dados, foram aplicados os testes de análise de variância (ANOVA) e de comparação múltipla de Tukey, com $p < 0,05$ para a comparação entre os grupos, utilizando o Software GraphPad-Prism V3.02.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise físico-químicas da pitáia vermelha (*Hylocereus undatus* Haw)

Os resultados das análises físico-químicas da pitáia vermelha foram apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Análises físico-químicas da polpa de pitáia (*Hylocereus undatus* Haw).

Análises físico-químicas	Polpa da pitáia <i>in natura</i>
Umidade % m/m	86,03
Resíduo Mineral Fixo % m/m	0,75
Lipídeos % m/m	0,16
Proteínas % m/m	2,27
Carboidratos totais %	10,79
Valor calórico total Kcal 100/g	53,68
Determinação de pH	5,05
Fibra bruta % m/m	1,15
Acidez total mL sol M % m/v	1,82
Açúcares totais % m/m	5,92
Açúcares redutores em glicose % m/m	2,26
Sódio mg/g	0,14
Potássio mg/g	3,09

Açúcares não redutores em sacarose % m/m	3,66
Vitamina C (método iodato) mg/100g	0,84
Sólidos totais % m/m	13,97
Sólidos solúveis em °Brix a 20°C	11,40
Sólidos insolúveis em água % m/m	4,03

* As análises físico-químicas do presente estudo foram realizadas em duplicata, e os resultados expressos como médias das duplicatas.

A amostra das pitaias vermelhas provenientes de Brasília – DF, apresentaram alto teor de umidade (86,03%), Tabela 1. Os resultados encontrados por Le Bellec e colaboradores (2006) corroboram com o resultado do presente estudo, pois, segundo os autores, esse teor varia de 82 a 88%. Os mesmos encontraram nas pitaias vermelhas valores mais baixos para proteínas (entre 0,3 e 1,5%), do que o valor encontrado no presente estudo (2,27%) (24). Em estudo realizado por Barbosa e colaboradores em 2006, os autores encontraram valores de proteína (5,47% e 4,81%) respectivamente, em frutos de xique-xique (*Cereus gounellei*) e mandacaru (*Cereus jamacaru*) também pertencentes à Família Cactaceae, sendo estes superiores aos valores encontrados no presente trabalho (88).

De acordo com Rufino (2007) os valores de pH da polpa da pitaiá vermelha variam de 4,3 a 4,7 sendo estes menores que o pH (5,05) encontrado no presente estudo (89). Segundo Baruffaldi e Oliveira (1998) e Silva e Alves (2009), o valor do pH interfere de maneira significativa no desenvolvimento de micro-organismos, uma vez que os alimentos pouco ácidos, com pH acima de 4,0, são susceptíveis ao crescimento de cepas de *Clostridium botulinum* produtores de toxinas (90, 91). Segundo Sim e colaboradores (2013), a *Salmonella* spp. poderia crescer em pitaias vermelhas recém-colhidas sob condições de armazenamento inadequadas, em temperatura ambiente (37). Considerando-se que o pH ótimo de crescimento da *Salmonella* é de 6,5 a 7,5 (Costa, 1996), a utilização de baixas temperaturas durante o armazenamento das pitaias vermelhas estenderiam sua vida útil e contribuiria para a segurança alimentar da fruta (92).

Brunini e Cardoso em 2011, estudaram o armazenamento de pitaiá vermelha a 13°C por 25 dias e observaram um aumento do valor de pH de 4,60 a 5,8, resultado coerente com o apresentado neste trabalho (93). Estudos realizados sobre as condições de armazenamento da pitaiá mostram que a temperatura de 8°C,

durante o armazenamento, é a melhor para manter os atributos de qualidade da mesma (94).

O índice de acidez encontrado para a pitaita vermelha foi de (1,82%), superior aos obtidos por Oliveira e colaboradores (2004), com valores de acidez de 0,21% em frutos da cactácea mandacaru (*Cereus jamacaru*) (95). A acidez total titulável fornece informações sobre os ácidos orgânicos presentes nos frutos, os quais são indicativos do estágio de maturação, os quais tendem a aumentar no decorrer do desenvolvimento fisiológico e diminuir durante a maturação. Os ácidos orgânicos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade (96). Todos os fatores sejam eles ambientais ou fisiológicos, que interferem no metabolismo dos açúcares e ácidos, estarão inferidos na relação SST/AT e, conseqüentemente, no sabor do fruto (97).

A pitaita é considerada uma fruta pouco ácida quando comparada a outras espécies. Geralmente seus teores são inferiores a 1% em frutos maduros (98,99). Em estudos reportados por Wanitchang e colaboradores (2010) mostram valores de acidez titulável para pitaita em torno de 0,2% (100). O teor de acidez é indicativo do estágio de maturação dos frutos, frutos mais verdes apresentam acidez mais elevada. Rodrigues (2010) verificou valores de acidez titulável dos frutos de pitaita do cerrado variando 1,1% aos 21 para 0,4% aos 70 dias após a antese (99). De acordo com CHITARRA; CHITARRA 2005, o teor de ácidos orgânicos tende a diminuir, durante o processo de maturação, em virtude da oxidação dos ácidos em decorrência da respiração ou quando são convertidos açúcares (97). Kays (1997), também afirma que após a colheita e durante armazenamento, a concentração de ácidos orgânicos tende a declinar em consequência da utilização destes compostos como substrato para respiração e como esqueleto carbônico na síntese de novos compostos (101). Em pesquisa realizada por Nerd e colaboradores (1999), os autores observaram que a acidez titulável inferior a 1%, explica um bom sabor e doçura em frutos de pitaita vermelha (29). Sendo assim, o valor superior encontrado no presente trabalho quando comparado a outras espécies de pitaita, corresponde ao tempo de maturação dos frutos.

Os sólidos solúveis totais são usados como índice de maturidade para alguns frutos e indicam a quantidade de substâncias que se encontram dissolvidas no suco, constituído na sua maioria de açúcares (102). O valor de sólidos solúveis encontrado

nas amostras de pitáia vermelha (11,40 °Brix) corroboram com os resultados apresentados por Wu e colaboradores (2006) em polpas de pitáia vermelha (11,1 °Brix) (7). Para Wanitchang e colaboradores (2010), frutos com leitura de °Brix superior a 12% e 13% apresentam melhor aceitabilidade para o consumo (100).

A fibra bruta encontrada na pitáia vermelha foi de 1,15%, sendo este resultado semelhante aos encontrados nas polpas das cactáceas xique-xique (*Cereus gounellei*) e mandacaru (*Cereus jamacaru*) 1,13% e 1,45%, respectivamente (BARBOSA, 2006) (88). Através do resultado obtido no presente estudo verifica-se que a pitáia vermelha é um alimento com baixo valor energético e boa fonte de fibra bruta, podendo contribuir para uma dieta saudável. Além disso, apresenta baixo teor de lipídeos (0,16%).

O valor calórico (53,68 Kcal 100/g) encontrado na polpa da pitáia vermelha foi superior aos valores calóricos citados por Le Bellec (2003), para as espécies *Hylocereus undatus* e *Hylocereus costaricensis*, correspondendo a 37,9 kcal e 41,7 kcal, respectivamente (103).

O teor de cinzas, que constitui a fração inorgânica ou mineral dos alimentos, foi de 0,75%. De acordo com Gondim e colaboradores (2005), as frutas são consideradas as principais fontes de minerais da dieta humana, sendo encontrados nas cascas, teores superiores aos das partes comestíveis (104). Em estudo realizado por Silva e colaboradores (2005), os autores encontraram valores de 0,72% de minerais em frutos de coroa-de-frade (*Melocactus zehntneri*), valor próximo ao encontrado no presente estudo para a pitáia vermelha (105). Já Morton (2013), trabalhando com a cactácea ora-pro-nobis (*Pereskia grandifolia* Haw.) encontrou um teor de cinzas de 0,6%, abaixo do encontrado para a pitáia vermelha no presente trabalho (106).

A polpa da pitáia vermelha apresentou teor de sólidos totais (13,97%) superior ao valor encontrado por Queiroz e colaboradores (2004) para a polpa do figo-da-índia, que também é uma cactácea, de 11,82% (107).

Quando observado o valor de vitamina C da pitáia vermelha (0,84 mg.100 g⁻¹), nota-se que este foi inferior aos encontrados por Beltrán-Orozco em 2009, que encontrou em média 13 mg.100 g⁻¹ em pitáias vermelhas do gênero *Stenocereus* (108). Por outro lado, Choo e Yong (2011) encontraram teores médios de vitamina

C iguais a 32,65 e 31,05 mg.100 g⁻¹, em pitaias vermelhas *Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus*, respectivamente (109). Em pesquisa realizada por Mahattanatawee e colaboradores (2006), os autores encontraram valores de vitamina C iguais a 55,8 e 13 mg.100 g⁻¹, em pitaias vermelhas *Hylocereus sp.*, cv. Red Jaina (pitaia vermelha de polpa vermelha e *Hylocereus sp.*, cv. David Bowie (pitaia vermelha de polpa branca), respectivamente. Pode-se observar que os teores de vitamina C podem variar de acordo com a espécie, cultivar e origem (49).

5.2 Determinação de minerais

A determinação dos minerais presentes na polpa da pitaia vermelha foi apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Minerais presentes na polpa da pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil

Minerais	Pitaia vermelha (<i>Hylocereus undatus</i>)	Quantidade		Referência
		DDR	VMR ou VMA	
Alumínio (Al)	0,000 mg/100g	-	1mg/kg corporal/semana (VMA)	Stahl <i>et al.</i> 2011
Arsênio	0,000 mg/100g	-	-	-
Cádmio	0,000 mg/100g		0,050 mg/kg peso fresco (VMA)	Regulamento (CE) n° 629/2008
Cálcio	0,040 mg/100g	800 mg/dia		Decreto lei n° 54/2010
Chumbo	0,000 mg/100g		0,10 mg/kg peso fresco (VMA)	Regulamento (CE) n° 1881/2006
Cobalto	0,000 mg/100g	Não existe, mas para vitamina B ₁₂ a DDR 2,5 µ/dia	-	Alves <i>et al.</i> , 2003 e Decreto lei n° 54/2010
Cobre	0,000 mg/100g	1mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Cromo	1,250 mg/100g	40µ/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Ferro	0,000 mg/100g	14 mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Fósforo	0,003 mg/100g	700mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Magnésio	0,000 mg/100g	375mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Manganês	2,230 mg/100g	3mg/dia	-	Decreto lei n°

				54/2010
Mercúrio	0,000 mg/100g	-	-	-
Níquel	0,004 mg/100g	50mg/dia	-	Carrapatoso <i>et al.</i> , 2004
Potássio	3,090 mg/100g	2000mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010
Sódio	0,140 mg/100g	-	2,4 g de sódio/dia – 6g de sal/dia (VMR)	Fipa
Selênio	0,000 mg/100g	34mcg	-	Anvisa 2005
Zinco (Zn)	0,000 mg/100g	10mg/dia	-	Decreto lei n° 54/2010

* Doses diárias recomendadas (DDR), valores máximos recomendados (VMR) ou admissíveis (VMA).

Os elementos encontrados na polpa da pitiaia vermelha possuem uma relevante importância para a alimentação humana. Os micronutrientes cálcio e magnésio são requeridos pelo organismo em quantidades superiores a 100 mg/dia, já os micronutrientes manganês, cobre, zinco, ferro são requeridos em quantidades inferiores a 100 mg/dia. Os teores de minerais encontrados em 100g de polpa da pitiaia vermelha com exceção do manganês, não suprem a necessidade diária recomendada para adultos que, segundo a Organização Mundial de Saúde, é de 1200 mg de cálcio, 230 a 420 mg de magnésio, 1,8 a 2,3 mg de manganês, 11 mg de zinco em homens e 8 mg em mulheres (110).

Dentre os elementos minerais analisados, o que apresentou maior concentração foi o potássio, seguindo pelo manganês, cromo, sódio, cálcio e, em menor concentração, o fósforo. Stintzing e colaboradores em 2003, caracterizando quimicamente a polpa da pitiaia vermelha (*Hylocereus undatus*), verificaram as seguintes concentrações de cálcio (23 mg 100g⁻¹), potássio (320 mg 100g⁻¹), magnésio (265 mg 100g⁻¹) e sódio (33 mg 100g⁻¹) (111). E, em estudo realizado por Rodrigues (2010), a pitiaia vermelha do cerrado, apresentou teores de cobre (1,1 mg 100g⁻¹), zinco (0,3 mg 100g⁻¹), e ferro (2,9 mg 100g⁻¹), sendo estes todos superiores aos encontrados neste estudo (99).

5.3 Determinação de ácidos graxos

A determinação de ácidos graxos presentes na polpa da pitiaia vermelha foi apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Ácidos graxos presentes na polpa da pitáia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil

Ácidos Graxos	Polpa da pitáia vermelha (<i>Hylocereus undatus</i>)	% Ácidos Graxos
Ácido palmítico C16:0	62,740 mg/100mL	12,632
Ácido palmitoléico C16:1 ω7	1,765 mg/100g	0,355
Ácido heptadecanóico C17:0	0,373 mg/100g	0,075
Ácido heptadecenoico C17:1 ω 7	0,580 mg/100g	0,116
Ácido oléico C18:1 C ω9	22,066 mg/100g	4,442
Ácido oleico C18:1 T ω9	107,040 mg/100g	21,551
Ácido linoléico C18:2 C ω6	252,650 mg/100g	50,869
Ácido linoléico C18:2 T ω6	0,690 mg/100g	0,138
Ácido alfa-linolênico C18:3 ω3	4,569 mg/100g	0,919
Ácido α-linolênico C18:3 ω6	0,762 mg/100g	0,153
Ácido araquídico C20:0	4,587 mg/100g	0,923
Ácido eicosatrienoico C20:3 ω 6	0,615 mg/100g	0,123
Ácido araquidônico C20:4 ω 6	1,384 mg/100g	0,278
Ácido eicosapentaenoico C20:5 ω 3	0,304 mg/100g	0,061
Ácido heneicosanoico C21:0	0,610 mg/100g	0,122
Ácido beénico C22:0	3,713 mg/100g	0,747
Ácido docosahexaenoico C22:6 ω 3	0,608 mg/100g	0,122
Ácidotricosanoico C23:0	0,351 mg/100g	0,070
Ácido lignocérico C24:0	2,527 mg/100g	0,508
Ácido tetracosenoico C24:1 ω9	0,309 mg/100g	0,062
Ácido esteárico C18:0	27,333 mg/100g	5,503
Ácido eicosamonoenoico C20:1 ω9	1,091 mg/100g	0,219
Total de ácidos graxos saturados (%)		20,580
Total de ácidos graxos insaturados (%)		79,408

* As análises foram realizadas em duplicata, e os resultados foram apresentados como a média das duplicatas.

As sementes da pitáia constituem cerca de 1 % a 2 % do peso da base úmida da fruta. A percentagem média de óleo na semente é de 29,5 % e 32 % para o *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhizus*, respectivamente (14).

Através da Tabela 3 foi possível observar que o ácido graxo predominante da polpa da pitáia vermelha *Hylocereus undatus* é o ácido linoleico, que representa 50,869% do total de ácidos graxos da fruta, seguido do ácido oleico com 21,551% e posteriormente do ácido palmítico com 12,632% do valor total de ácidos graxos. Essa composição em ácidos graxos mono e poliinsaturados é importante para a saúde, uma vez que esses ácidos contribuem para a redução das frações de lipoproteína de baixa densidade e de muito baixa densidade, responsáveis pelo aumento do colesterol sérico (112).

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos desempenham importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. Em humanos, os ácidos linoleico e alfa-linolênico são necessários para manter as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos sob condições normais. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo humano (113).

Tabela 4. Relação dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 da polpa da pitáia vermelha (*Hylocereus undatus*) cultivada no Brasil

Índices	Polpa da pitáia vermelha
MUFA/SFA	1,299
PUFA/SFA	2,558
ω -6/ ω -3	46,788

* SFA: Saturated fatty acids. MUFA: Monounsaturated fatty acids. PUFA: Polyunsaturated fatty acids. MUFA/SFA: relação entre ácidos graxos monoinsaturados e saturados. PUFA/SFA: relação entre ácidos graxos poli-insaturados e saturados. ω -6/ ω -3: relação entre ácidos graxos ω -6 e ω -3. Em que ω : ômega.

A relação MUFA/SFA E PUFA/SFA (Tabela 4) na pitáia vermelha foi de 1,299 e 2,558, respectivamente, o que representa um excelente resultado do ponto de vista nutricional. Sabe-se que alimentos com valores menores que 0,45 (MUFA/SFA e PUFA/SFA) são considerados indesejáveis em humanos, uma vez que apresenta relação com o aumento do colesterol sanguíneo (114).

5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA E CASCA DA PITAIA VERMELHA

Na Figura 5, consta a atividade antioxidante determinada pelo ensaio DPPH, na polpa e casca da pitáia vermelha. Os resultados estão expressos em EC50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$), que corresponde à quantidade de extrato necessária para reduzir o radical

DPPH em 50% assim, quanto menor o EC50, melhor é a capacidade antioxidante do extrato.

Alguns estudos têm demonstrado que a pitaiá apresenta boa capacidade antioxidante *in vitro*. Entretanto, esse potencial antioxidante pode variar entre as diferentes espécies de pitaiá e as diferentes origens (49,108,109). Para a pitaiá vermelha, foram obtidos os seguintes valores de absorbância: Metanol (0,048 nm), Controle: 750 μ L + 1,5mL de DPPH (0,449nm), Branco: 750 μ L + 1,5mL de metanol (0,043 nm). Para a solução padrão de BHT, um poderoso antioxidante sintético, foi observada atividade antioxidante, após o período de 20 minutos de reação com o DPPH de 90,20%.

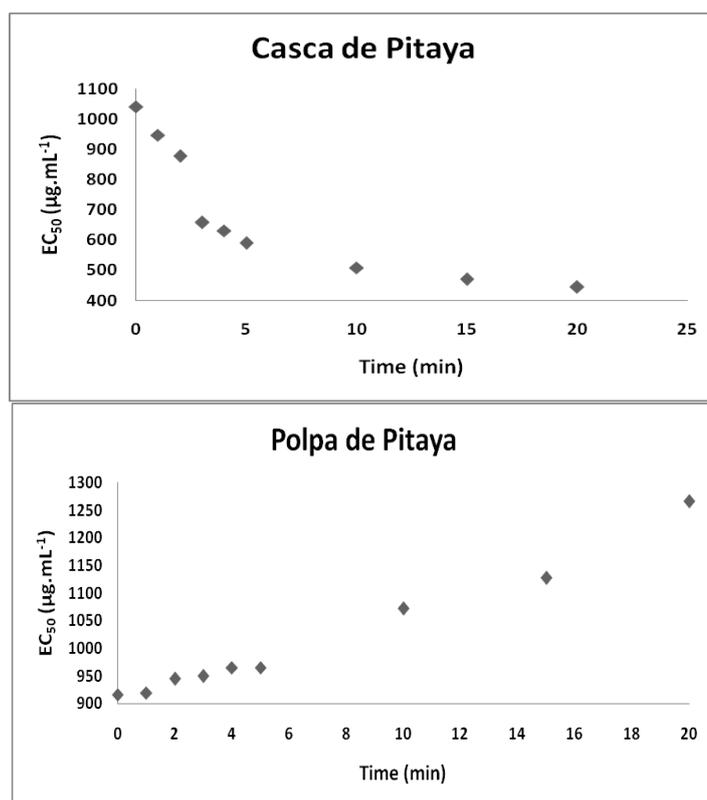


Figura 5. Valores de EC₅₀ (μg mL⁻¹) dos extratos aquosos de casca e polpa de pitaiá vermelha (*Hylocereus undatus*).

Tanto o extrato da casca como o da polpa apresentaram atividade em sequestrar o radical livre DPPH. A maior atividade antioxidante foi encontrada na casca (445,2 μg mL⁻¹), frente ao menor valor exibido pela polpa (1.266,3 μg mL⁻¹).

Vizzotto e colaboradores em 2014, avaliaram o potencial antioxidante da polpa e casca da pitiaia por meio de extração em metanol e obtiveram valores de EC₅₀ de 209,66 e 1,363,2 µg mL⁻¹ para casca e polpa respectivamente, sendo estes resultados diferentes aos valores encontrados no presente trabalho. Porém, os autores também observaram maior atividade antioxidante da casca da pitiaia no extrato metanólico do que na polpa (115).

De acordo com Wu e colaboradores (2006), os conteúdos fenólicos totais da polpa e da casca da pitiaia vermelha são semelhantes, assim como o conteúdo de flavonóides, indicando que a polpa e a casca da fruta apresentam-se ricas em polifenóis e são boas fontes de antioxidantes (7). Apesar de que neste estudo não tenham sido avaliados os teores de polifenóis, flavonoides e conteúdos fenólicos observou-se que a casca da pitiaia vermelha colhida em Brasília – DF apresenta maior atividade antioxidante do que a polpa, ou seja, ambas apresentam-se nutricionalmente interessantes para o consumo humano. Porém, é necessário investigar a possível presença de substâncias antinutricionais na casca da pitiaia antes de recomendar seu consumo à população.

Em estudo realizado por Kim e colaboradores (2011), os autores também observaram que o conteúdo de polifenóis e flavonóides do extrato metanólico da casca de pitiaia vermelha e da casca de pitiaia branca foram de aproximadamente três e cinco vezes maiores do que o conteúdo desses antioxidantes na polpa de pitiaia vermelha e na polpa de pitiaia branca, respectivamente (51).

5.5 VIABILIDADE CELULAR AVALIADA PELO ENSAIO DE MTT

O ensaio de MTT foi utilizado para avaliar a viabilidade celular. Na linhagem celular Sarcoma 180 observou-se que o extrato da casca de pitiaia modificou o perfil de crescimento celular após 48 horas de exposição, com um IC₅₀ de 2.156 mg. mL⁻¹ (p>0,05) (Figura 6).

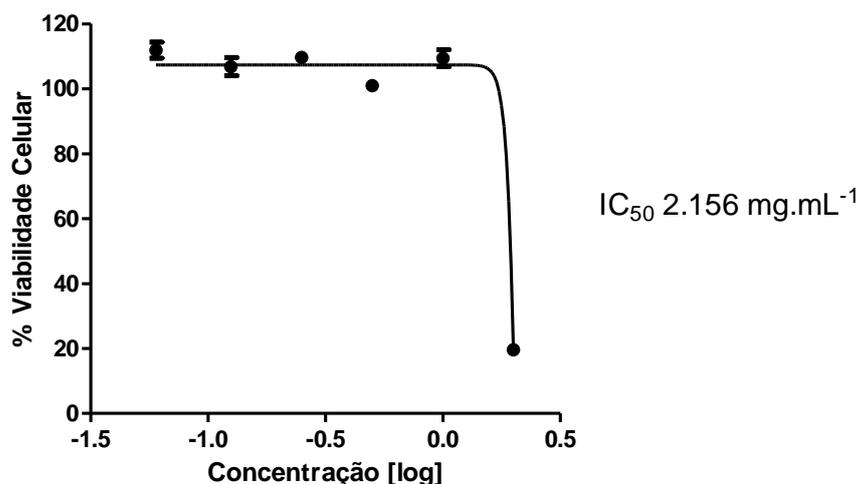


Figura 6. Efeito do extrato da casca de pitaia ($IC_{50} = 2.156 \text{ mg. mL}^{-1}$) sobre a viabilidade celular de células Sarcoma 180 após 48 horas. Os dados representam média \pm padrão, $n = 3$, $*p < 0.05$ (Teste de Tukey).

Pelo método colorimétrico com o MTT, o extrato da casca de pitaia apresentou um comportamento de dose-dependência com alta inibição na maior concentração ($2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$) e um IC_{50} frente à linhagem celular de S180 de 2.156 mg.mL^{-1} .

De Castro (2015), estudando a viabilidade celular através do ensaio MTT com extratos de pitaia vermelha (polpa e casca), em linhagem celular MDA-MB-435 constatou que houve também uma modificação no perfil de crescimento celular após 24 e 48 horas de tratamento quando o extrato promoveu um efeito mais pronunciado nas concentrações de 500 e 1000 mcg/mL com 20% de redução máxima na viabilidade celular (61).

Em pesquisa realizada por Hui e colaboradores (2014), os autores encontraram porcentagens de morte celular a uma concentração máxima de ($0,7 \text{ mg/mL}$) em extratos de casca de pitaia vermelha *Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus* para linhagens celulares PC3 (cancro de próstata), BCAP-37 (cancro de mama) e MGC-803 (cancro gástrico) nas proporções inibidoras correspondentes a 67,3% e 60,7% contra células PC3, 63,5% e 62,4% contra células BCAP-37 e 78,9% e 55,2% contra células MGC-803 respectivamente. Experiências posteriores verificaram que as proliferações destas três células foram significativamente inibidas por estes extratos em uma maneira dependente da concentração (116).

Os valores do extrato de *H. polyrhizus* sobre estas três células foram 0,61, 0,45 e 0,43 mg.mL⁻¹ respectivamente, enquanto que para o extrato de *H. undatus*, os valores de IC₅₀ foram de 0,64, 0,47, e 0,73 mg.mL⁻¹. Assim, observa-se que o extrato de *H. polyrhizus* foi mais eficaz como ação citotóxica, mostrando menores valores de IC₅₀ frente à linhagem celular *MGC-803*.

Em um outro estudo, o autor avaliou o efeito anti-tumoral do extrato de pitaiá em linhagens derivadas de carcinoma de mama. De acordo com resultados obtidos pelo ensaio de MTT, na linhagem MCF-7 tratada com o extrato de pitaiá, foi observado uma inibição na viabilidade celular desde as menores doses, com 48 horas de tratamento, promovendo a indução da parada do ciclo e promoção da morte por apoptose. Foi notado que o extrato de pitaiá regula a expressão de receptores hormonais e de oncogenes em modelos *in vitro* de linhagens de câncer de mama (61).

6. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados neste estudo apresentam ação citotóxica do extrato da casca de pitaiá vermelha (*Hylocereus undatus*) contra células cancerígenas do tipo Sarcoma 180. Assim, o extrato pode ser uma fonte potencial de compostos com atividade citotóxica e fornecem um ponto de referência para futuras pesquisas sobre os componentes químicos da casca de *Hylocereus undatus*.

A polpa da pitaiá [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] apresentou alto teor de umidade, o que justifica sua baixa vida de prateleira, se conservada a temperatura ambiente. Apresentou reduzido teor de lipídeos, proteínas, vitamina C e sódio. Em geral, as frutas apresentam baixos teores de lipídeos e proteínas. A concentração de ácido ascórbico nas frutas varia, de acordo com o tipo de cultivar, estágio de maturação, condições de cultivo entre outras.

O baixo valor calórico e a presença de micronutrientes na polpa da fruta representa um grande benefício para o uso na alimentação humana, principalmente em dietas com baixas calorias.

Na pitáia vermelha cultivada no Brasil existe a predominância do ácido graxo essencial linoleico (C18:2) seguido pelo ácido oleico (C18:1), importantes ácidos graxos essenciais com efeitos benéficos à saúde.

Por meio deste estudo verificou-se o fraco potencial antioxidante da polpa da pitáia vermelha, quando comparado à casca da fruta, o que sugere que a maior concentração de compostos com atividade antioxidante encontra-se na casca. Dessa forma, sugere-se que as cascas da fruta não devem ser descartadas na preparação dos alimentos, ressaltando a valorização de resíduos e fibras, ricos em nutrientes e compostos bioativos, importantes para a saúde da população.

O aprofundamento de estudos em modelos animais e clínicos, sobre a possível proteção do extrato da pitáia vermelha *H. undatus* no processo de tumorigênese, ajudará a entender outros mecanismos ainda não elucidados por este trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Veiga Júnior VF.; Pinto AC, Maciel MA. Plantas medicinais: cura segura? Química nova, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
2. Mokbel MS, Hashinaga F. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from buntan (*Citrus grandis* Osbeck) fruit tissues. Food Chem. 2006; v. 94, p. 529–34.
3. Mencarelli F et al. Chemical and biochemical change of healthy phenolic fractions in winegrape by means of postharvest dehydration. J. Agric. Food Chem Easton. 2010-June; v. 58, n.13, p. 7557-7564.
4. Sun J. et al. Antioxidant activities and contents of polyphenol oxidase substrates from pericarp tissues of litchi fruit. Food Chem, London. 2010-Mar; v, 119, n. 2, p. 753-757.
5. Jaafar RA, Rahman ARBA, Mahmud NZC, Vasudevan R. Proximate analysis of dragon fruit (*Hyclecerus polyhizus*). Am J Appl Sci. 2009; 6:1341–1346.

6. Junqueira K P, Faleiro FG, Junqueira NTV, Bellon G, Fonseca, KG, Lima CA, Sano SM. Diversidade genética de Pitaias nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. 2007; In: 4º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, São Lourenço- MG.
7. Wu LC, Hsu HW, Chen YC, Chiu CC, Lin YI, Ho JA. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaiá. *Food Chem.* 2006; 95:319–27.
8. Stintzing FC, Schieber A. et al. Betacyanins in fruits from red-purple pitaiá, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. *Food Chem.* 2002; v. 77, p. 101–106.
9. Stintzing FC. et al. Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. *Phytochemistry.* 2004; v. 65, p. 415–22.
10. Escribano J, Pedreno MA, Garcia-Carmona F, Munoz R. Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochem Anal.* 1998; v. 9, p. 124–127.
11. Pedreno MA, Escribano J. Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L. roots under different pH, temperature and light conditions. *J Sci Food Agric.* 2001; v. 81, p. 627– 631.
12. Wybraniec S, Mizrahi Y. Fruit flesh betacyanin pigments in *Hylocereus cacti*. *J Agric and Food Chem.* 2002; v. 50, n. 21, p. 6086-6089.
13. Li-Chen W, Hsiu-Wen H, Yun-Chen C, Chih-Chung C, Yu-in L, Ja-an AH. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chem.* 2006; v. 95, p. 319-327.
14. Ariffin AA. et al. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food Chem.* 2009; v. 114, p.561–564.
15. Bargellini A. et al. Trace elements, anxiety and immune parameters in patients affected by cancer. *Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS).* 2003; v.17, p. 3.

16. Duarte MH. Armazenamento e qualidade de pitaiia [*Hilocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] submetida à adubação orgânica. 2013; Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras (UFLA). 113p.
17. Kist BB. Anuário brasileiro de fruticultura. Santa Cruz do Sul, Editora Gazeta. 2012; 128 p.
18. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Uma década de bons frutos. Informativo CGPCP Fruticultura, Brasília. 2011 jan; ano 5, n. 46.
19. Canto AR. El cultivo de pitahaya en Yucatan. Universidad Autónoma Chapingo – Gobierno Del Estado de Yucatan. 1993; 53p.
20. Nerd A, Mizrahi Y. Fruit development and ripening yellow pitaya. J Am Soc Hortic Sci, Alexandria. 1998; v. 123, n. 4, p. 560-562.
21. Bastos DC, Pio R, Scarpore Filho J A, Libardi MN, Almeida LFPD, Galuchi TPD, BAKKER ST. Propagação da Pitaya ‘Vermelha’ por estaquia. Ciência e Agrotecnologia, Lavras. 2006; v. 30, n. 6, p. 1106-1109.
22. Oliveira AL. et al. Elemental contents in exotic Brazilian tropical fruits evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence. Scientia Agricola. 2006; v. 63, n. 1, p. 82-84.
23. Moreira RA. et al. Produção e qualidade de frutos de pitaiia vermelha com adubação orgânica e granulado bioclástico. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. 2011 out; p. 762-766.
24. Le Bellec F, Vaillant T F. et al. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. Fruits, Paris. 2006 july-aug; v. 61, n. 4, p. 237-250.
25. Marques VB. Germinação, fenologia e estimativa do custo de produção da pitaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Briton & Rose]. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010; 141f.
26. Donadio LC. Pitaiia. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. 2009; v. 31, n. 3, p. 637-929.

27. Junqueira KP, Junqueira NTV.; Ramos JD, Pereira AV. Informações preliminares sobre uma espécie de Pitaia do Cerrado. Documentos/ EMBRAPA Cerrados. 2002; Ed. 1. Planaltina, DF, 18 p.
28. Cavalcante IHL. Pitaia: propagação e crescimento de plantas. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008; 94p.
29. Nerd A, Mizrahi Y. Effect of ripening stage on fruit quality after storage of yellow pitaia. *Postharvest Biology and Technology*. 1999; v. 15, n. 2, p. 99-105.
30. Nerd A, Mizrahi Y. Reproductive biology of cactus fruit crops. *Horticultural Reviews*, New York. 1997 Apr; v. 18, n. 2, p. 321-346.
31. Kling E. O fruto das flores: novas espécies tornam mais rentáveis os investimentos no campo. *Revista Isto É*, São Paulo. 2003 jul; n.6, p.21-23.
32. Harivaindarn KV, Rebecca OP, Chandran, S. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pak J Biol Sci*. 2008 Sep 15;11(18):2259-63.
33. KIM H. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chem*. 2010; v. 121, n. 2, p. 429-436.
34. Cheynier V. Polyphenols in food are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr*. 2005; v. 81, p. 223-229.
35. Soobrattee MA. et al. Phenolics as potencial antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Resarch*. 2005; v. 579, p. 200-213.
36. Hoa TT. et al. Postharvest quality of Dragon fruit (*Hylocereus undatus*) following disinfecting hot air treatments. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam. 2006; v. 41, n. 1, p. 62-69.
37. Sim HL, Hong YK, Yoon WB, Yuk HG. Behavior of *Salmonella* spp. and natural microbiota on fresh-cut dragon fruits at different storage temperatures. *J Food Microbiol*. 2013 Jan 1;160(3):239-44. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.003. Epub 2012 Nov 12.

38. Ong YY, Tan WS, Rosfarizan M, Chan Ws, Tey BT. Isolation and identification of lactic acid bacteria from fermented red dragon fruit juices. *JFood Sci.* 2012 Oct;77(10):M560-4. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02894.x. Epub 2012 Aug 27.
39. Molina DJ, CRUZ JSV, QUINTO CDV. Producción y exportación de la pitahaya hacia el mercado europeo. 2009; 115f. Monografía (Especialización em Finanzas) – Facultad de Economía y Negocios, Quito.
40. Luo H, Cai Y, Peng Z, Liu T, Yang S. Chemical composition and *in vitro* evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaia (dragon fruit) peel. *Chem Central Journal.* 2014; 8:1.
41. Patocka J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *J Appl Biomed.* 2013; 1:7–12.
42. Arguete AV, Cano LM, Rodarte ME. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. 1994; Instituto Nacional Indigenista. II. 1170.
43. Dam (Departament of Agriculture-Malaysia). A Research and Development Center for Pitaia (Dragon Fruit). Malásia. Disponível em: <<http://www.dam-Department of Agriculture-Malaysia/default.htm>>
44. Perez GRM, Vargas, SR, Ortiz HYD. Wound Healing Properties of *Hylocereus undatus* on Diabetic Rats. *Phytotherapy Resarch.* 2005;19:665–8.
45. Anand SKR, Sttar MA, Abdullah NA, Abdulla MH, Salman IM, Rathore HA, Hohns EJ. Effect of dragon fruit extract on oxidative stress and aortic stiffness in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacognos Research.* 2010 Jan;2(1):31-5. doi: 10.4103/0974-8490.60582.
46. Hor SY, Ahmad M, Farsi E, Ahmad M, Farsi E, Yam MF, Hashim MA, Lim CP, Sadikun A, Asmawi MZ. Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): acute and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicolgy and Pharmacology.* 2012 Jun;63(1):106-14. doi: 10.1016/j.yrtph.2012.03.006. Epub 2012 Mar 14.
47. Esterbauer H, Ramos P. Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL. *Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology.* 1996;127:31–64.

48. Antolovich M, Prenzer, P.D.; Patsalides, E.; Mcdonald, S.; Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002;127(1):183–198.
49. Mahattanatawee K, Manthey JA, Luzio G, Talccott ST, Goodner K, Baldwin EA. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. . 2006 Sep 20;54(19):7355-63.
50. Herbach, K.M.; Stintzing, F.C.; Elssb, S.; Prestonb, C.; Schreerb, P.; Carlea, R. Isotope ratio mass spectrometrical analysis of betanin and isobetanin isolates for authenticity evaluation of purple pitiaia-based products. *Food Chem* 2006, 99:204–209.
51. 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 pitaias and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *J Food Sci*. 2011 Jan-Feb;76(1):C38-45. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01908.x. Epub 2010 Nov 29.
52. Guivant J. S. Os supermercados na oferta de alimentos orgânicos: apelando ao estilo de vida ego-trip. *Amb. Soc. Campinas*. 2003; v. 6(2).
53. Carratu E, Sanzini E. “Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable”. *Ann. Ist. Super Sanità*. 2005; v. 41, n. 1, p.7-16.
54. Pinto MS. Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (*Fragaria x ananassa* Duch.): caracterização e estudo da biodisponibilidade dos derivados de ácido elágico. 2008. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
55. Yen G C, Lai H H. et al. Nutric oxide scavenging and antioxidant effects of *Uraria crinite* root. *Food Chemistry*. 2001; v. 74, p. 471-478.
56. De Castro DSB. Obtenção de extrato de pitiaia e avaliação da sua atividade antioxidante e antiproliferativa em linhagens celulares humanas de câncer de mama. 2015.130 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.
57. Sabate J. The contribution of vegetarian diets to health and disease: a paradigm shift? *Am J Clin Nutr*. 2003; v. 78, p. 502-7.

58. Larsen C S. Animal source foods and human health during evolution. *J Nutr.* 2003; v. 133, n. 11, p. 3893-7.

59. Williamson G, Holst B. Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction? *Br J Nutr.* 2008; v. 99, p. 55-8.

60. Jacobs D R, Tapsell LC. Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. *Nutr Rev.* 2007; v. 65, n. 10, p. 439-50.

61. Kennedy A. et al. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr.* 2009; v. 139, p. 1-4.

62. Palozza P. et al. Induction of cell cycle arrest and apoptosis in human colon adenocarcinoma cell lines by beta-carotene through down-regulation of cyclin A and Bcl-2 family proteins. *Carcinogenesis.* 2002; v. 23, n. 1, p. 11-18.

63. Nazarian R. et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF (V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Natur.* 2010; v. 468, n. 7326, p. 973-977.

64. Chen X, He B. Oxygen free radical scavenging activity and anti-lipid peroxidation of tea polyphenol. *Zhong Yao Cai.* 2007; v. 21, p. 141-145.

65. Cos P. et al. Proanthocyanidins in health are: current and new trends. *Current Med. Chem.* 2004; v. 10, p. 1345-1359.

66. Bargellini A. et al. Trace elements, anxiety and immune parameters in patients affected by cancer. *Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS).* 2003; v.17, p. 3.

67. Asmah R, Laili MN. Free radical scavenging activity of two *Hylocereus* species (Cactaceae) and their effect on the proliferation of HeLa and MDA-MB-231 cancer cell lines. *Planta medica.* 2008 v. 74, p. 5.

68. Menon LG, Kuttan R. et al. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. *Cancer Letters.* 1995; v. 95, n. 1, p. 221-225.

69. Grivlcich I, Regner, A. et al. Morte Celular por apoptose. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2007 v. 53, n. 3, p. 335-343.

70. Boatright KM, Salvesen GS. Mechanisms of caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*. 2003; v. 15, p. 725-731.

71. Slee EA. Executioner capase-3,-6 and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phases of apoptosis. *J Biol Chem*. 2001; v. 276, p. 7230–7236.

72. Hou DX. et al. Molecular mechanisms behind the chemopreventive effect of anthocyanidins. *J Biomed Biotech*. 2004; v. 5, p. 321–325.

73. Lazze MC. et al. Anthocyanins induce cell cycle perurbations and apoptosis in different human cell lines. *Carcinogenesis*. 2004; v. 25, p. 1427–1433.

74. Diehl JA, Gladden AB. Cell cycle progression without cyclin E/CDK2: breaking down the walls of dogma. *Cancer Cell*. 2003; v. 4, n. 3, p. 160-162.

75. Panigrahy D. et al. PPARgamma ligands inhibit primary tumor growth and metastasis by inhibiting angiogenesis. *J Clin Invest*. 2002; v. 110, n. 7, p. 923-932.

76. Osawa E, Nakajima A. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands suppress colon carcinogenesis induced by azoxymethane in mice. *Gastroenterology*. 2003; v. 124, p. 361-367.

77. Lima CA, Faleiro FG, Junqueira NTV, Cohen KO, Guimarães TG. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do Cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2013; vol. 35, nº 2.

78. Official methods of analysis of AOAC International. 19th ed. Gaithersburg, 2012. 3000p.

79. Ferreira FAG, Graça MES. Tabela de composição de alimentos portugueses. Lisboa: Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge. 1983; 2.ed.

80. Nelson NA. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem.* 1944; p.135 - 375.

81. Pereira A da S, Campos AD. Teor de açúcares em genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.). *Ciência Rural.* 1999; 29: 13-16.

82. Aoac. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washington, D.C, 1994.

83. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian J Biochem Physiol.* 1959; v.37, n.8, p.911-917.

84. Visentainer JV, Franco MRB. Ácidos Graxos em Óleos e Gorduras: Identificação e Quantificação. 2006; v. 1. 124 p.

85. Maia EL. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição de ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

86. Brand-Williams W, Cuvelier, ME, Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol.* 1995; v.28, p.25-30.

87. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J immunol methods.* 1983; v. 65, n. 1, p. 55-63.

88. Barbosa AS, Araújo AP, Canuto TM, França VC. Avaliação preliminar da composição físico-química dos frutos do mandacaru (*Cereus jamacaru*) e xique-xique (*Cereus gounellei*). *Anais do Congresso Brasileiro de Química - Salvador - BA.,* 2006.

89. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Moraes SM, Sampaio CG, Pérez-Juménez J. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Embrapa Com Técn.* 2007;127:1-4.

90. Baruffaldi R, Oliveira MN. Fatores que condicionam a estabilidade de alimentos. P. 13-25. *Fundamentos de tecnologia de alimentos.* 1998; São Paulo: Atheneu, v.3, cap. 2.

91. Silva LR, Alves RE. Caracterização físico-química de frutos de mandacaru. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambiente*. 2009 abr-jun Curitiba, v.7, n.2, p. 199-205.
92. Costa FN. Sorotipos de Salmonella em carcaças e cortes de frango obtidos na indústria e no comércio e comportamento das cepas isoladas frente à ação de antimicrobianos. 82f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo. 1996.
93. Brunini MA, Cardoso SS. Qualidade de pitaias de polpa branca armazenadas em diferentes temperaturas. *Revista Caatinga, Mossoró*. 2011 jul-set; v. 24, n. 3, p. 78-84.
94. Magaña BW. et al. Principales características de calidad de lãs pitahayas (*Hylocereus undatus haworth*), frigoconservadas em atmosferas controladas. *Revista Ciências Técnicas Agropecuárias*. 2006; v. 15, n. 2, p. 52-56.
95. Oliveira FMN, Alexandre HV, Figueirêdo RMF, Queiroz AJM, Oliveira AR. Características físico-químicas da polpa e casca do fruto do mandacaru. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19. 2004, Recife. Anais... Recife: Centro de Convenções de Pernambuco, 2004. CDROM.
96. Cecchi HM. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Unicamp. 2. Ed. 2003; 208p.
97. Chitarra MIF, Chitarra AB. Pós colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2005; 785p.
98. Brunini MA, Cardoso SS. Qualidade de pitayas de polpa branca armazenadas em diferentes temperaturas. *Revista Caatinga, Mossoró*. 2011 jul-set; v.24, n.3, 3p.
99. Rodrigues LJ. Desenvolvimento e processamento mínimo de pitaias nativas (*Selenicereus setaceus Rizz.*) do cerrado brasileiro. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras. 2010; 164p.
100. Wanitchang J. et al. Maturity sorting index of dragon fruit: *Hylocereus polyrhizus*. *J Food Eng*. 2010; v. 10, n. 3, p. 409-416.

101. Kays JS. Postharvest physiology of perishables plant products. New York: Athens, 1997; 532 p.

102. Chaves MCV. et al. Caracterização físico-química do suco da acerola. Revista de Biologia e Ciência da terra. 2004; v.4, n.2.

103. Le Bellec F. La pitaia (*Hylocereus sp.*) en culture de diversification à l'île de la Réunion. Paris: Institut National d'Horticulture, 2003. 55p.

104. Gondim JAM, Moura MFV.; Dantas AS, Medeiros RLS, Santos KM. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas. 2005 out-dez; v. 25, n.4, p. 825-827.

105. Silva ASA, Figueirêdo RMF, Queiroz AJM, Lima E. Avaliação da composição físico – química da coroa – de – frade. Revista de Biologia e Ciências da Terra. 2005.

106. Morton JF. Barbados gooseberry. In: Fruits of warm climates. 2013. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop>>

107. Queiroz AJM, Figueirêdo RMF, Grandeiro AA. Características físico-químicas de polpas de figo-da-índia concentradas. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. 2004; 33, São Pedro. Anais...São Pedro: Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 2004. CD.

108. Beltrán-Orozco MC, Oliva-Coba TG, Gallardo-Velázquez T, Osorio-Revilla G. Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaia cactus fruit (*Stenocereus stellatus* Riccobono). Agrociencia. 2009;43(2):153-62.

109. Choo WS, Yong WK. Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. Advances in Applied Science Research. 2001; v. 2, n. 3, p. 418-425.

110. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, de 23 de setembro de 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>.

111. Stintzing FC, Schieber A, Carle R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research Technology*, London. 2013-apr; v. 216, n.4, p. 303-311.
112. Jenkins DJ, Kendall CW, Marchie A, Parker TL, Connelly PW, Qian W, et al. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized lowdensity lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitricoxide. A randomized, controlled, crossover trial. *Circulation*. 2002; v106.p.1327-1332.
113. Martin CA, De Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, De Souza NE, Visentainer JV. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de Nutrição*. 2006; vol.19. p.761-770.
114. Department of Health and Social Security. Diet and Cardiovascular Disease. Report on Helth and Social Subjects. London: HMSO, 1984; N° 28.
115. Vizzotto M. et al. Determinação de compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em genótipos de pitaia (espécies não determinadas). XXIII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cuiabá, 2014.
116. Hui L, Yong QC, Zhijun P, Tao L, Shengjie Y. Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaia (dragon fruit) peel. *J Chem Central*. 2014; 8:1, p.1-7.