

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

MATHEUS WILLIAN BARBATO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PITAIA

TOLEDO
2021

MATHEUS WILLIAN BARBATO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PITAIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos (COPEQ) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador (a): Prof.^a Dr. Ricardo Fiori Zara

TOLEDO
2021

MATHEUS WILLIAN BARBATO

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SEMENTES DE PITAIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, câmpus Toledo, como parte das exigências para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Aprovado em ____, de _____ de 20__.

Banca examinadora

Prof Dr Ricardo Fiori Zara
UTFPR, câmpus Toledo
Orientador

Prof^a Dr^a Clayton Antunes Martin
UTFPR, câmpus Toledo
Avaliador

M.^a Evelyn Diane Pereira
UTFPR, câmpus Toledo
Avaliador

OBS: A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Tecnologia em Processos Químicos.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, a oportunidade de conhecimento e sabedoria que nos foi dada, pela força e garra para concluir mais esta etapa com calma, superando e agradecendo a cada dia.

A minha família por todo apoio e ajuda nos momentos difíceis, nas horas de estresse, nos auxílios e nos motivos ao longo desta jornada, sempre incentivando e ajudando a manter os pés no chão e a ser forte.

A minha mãe Solange principalmente, por ser a pessoa mais importante da minha vida, ser mãe, ser pai, amiga, companheira, meu porto seguro, meu exemplo de pessoa a ser seguido, mostrando sempre que não importa o que aconteça, não importa o que se faça há sempre algumas coisas que devemos ter em mente, força de vontade, fé, persistência, humildade e acima de tudo mostrando que tudo é possível desde que você queira e desde que batalhe pra isso, obrigado mãe.

Aos meus amigos e colegas de trabalho pela parceria, ajuda e todo conhecimento obtido durante todo momento.

Ao João, meu grande amigo, parceiro, exemplo de pessoa e profissional, que me incentivou a iniciar na atividade acadêmica por meio de um simples projeto de iniciação científica que futuramente viria a se tornar meu foco de estudo.

Ao meu orientador Dr. Ricardo Zara que auxiliou a todo momento, me guiou e deu todo o suporte que um aluno poderia ter durante a faculdade.

Ao professor Clayton pelos auxílios em métodos analíticos específicos, esclarecendo, ajudando e sanando as dúvidas.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná e a todos os funcionários e colaboradores que possibilitaram a utilização dos laboratórios para execução do presente trabalho bem como o Laboratório Multiusuário da Central Analítica da UTFPR- Campus Toledo.

Resumo

BARBATO, W. M. Atividade antioxidante de sementes de pitaia, 2021. 43 folhas. Trabalho de Conclusão do Curso Tecnologia em Processos Químicos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2021.

O estudo envolvendo alimentos funcionais ricos em propriedades nutritivas e antioxidantes, está cada vez mais popular. Combater doenças e retardar o envelhecimento celular é um grande desafio no mundo todo. Isso tudo está relacionado com a prática de vida saudável e diminuição dos riscos de doença. Este fato se torna viável na região, tendo o Brasil como terceiro maior produtor de frutas no mercado mundial. Os frutos em gerais são alimentos ricos em vitaminas e capazes de retardar o envelhecimento celular através dos antioxidantes. Esta propriedade torna os frutos, responsáveis por acompanhar a maioria das refeições do ser humano. Por intermédio de pesquisas na área, este trabalho tem como objetivo a avaliação das três espécies de pitaia por métodos espectrofotométricos padronizados como DDPH, ABTS, compostos fenólicos e flavonoides para a determinação da atividade antioxidante através de um conjunto de métodos para demonstrar o potencial antioxidante do fruto. Para os testes realizados utilizou-se amostra em extrato etanoico, onde a mesma apresentou melhor resultado para o índice de atividade antioxidante igual a 0,0021 para a espécie *Hylocereus undatus* pelo método DPPH e através do método ABTS apresentou um valor de 17,79 μmol de Trolox/g amostra para a espécie *Hylocereus megalanthus*. Os resultados tem por objetivo paralelo conscientizar e informar sobre a importância no consumo de frutos de variados tipos e também em uma dieta balanceada.

Palavras-chave: Pitaya. Compostos fenólicos. Flavonoides. Alimento Funcional. Dragon Fruit.

Abstract

BARBATO, W. M. Antioxidant activity of pitaya seeds, 2021. 43 sheets. Conclusion of the Course in Technology in Chemical Processes. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2021.

The study involving foods rich in nutritional and antioxidant properties is increasingly popular. Fighting disease and slowing cell aging is a major challenge worldwide. This is all related to the practice of healthy living and lowering the risk of illness. This fact becomes viable in the region, with Brazil as the third largest fruit producer in the world market. Fruits in general are foods rich in vitamins and capable of slowing cell aging through antioxidants. This property makes the fruits responsible for accompanying most human meals. Through research in the area, this work aims to evaluate the three species of pitaya by standardized spectrophotometric methods such as DDPH, ABTS, phenolic compounds and flavonoids for the determination of antioxidant activity through a set of methods to demonstrate the potential fruit antioxidant. For the tests performed, a sample in ethanolic extract was used, where the same presentation best result for the antioxidant activity index equal to 0.0021 for the species *Hylocereus undatus* by the DPPH method and through the ABTS method presented a value of 17.79 μmol of Trolox / g sample for a species *Hylocereus megalanthus*. The results have the parallel objective to raise awareness and inform about the importance in the consumption of fruits of different types and also in a balanced diet.

Keywords: Pitaya. Phenolic compounds. Flavonoids. Functional food. Dragon Fruit.

Lista de ilustrações

Figura 1 - <i>Hylocereus costaricensis</i> (esquerda), <i>Hylocereus megalanthus</i> (centro), <i>Hylocereus undatus</i> (direita).....	19
Figura 2 - Reação geral na determinação de fenólicos totais.....	20
Figura 3 - Reação geral de flavonoides na presença de alumínio.....	21
Figura 4 - Coloração roxo escuro (esquerda), tonalidades mais claras (direita).	21
Figura 5 - Redução do radical ABTS por um antioxidante.....	22
Figura 6 - Curva Padrão Trolox para determinação da atividade antioxidante	32
Figura 7 - Curva padrão de ácido gálico.....	34
Figura 8 - Curva Padrão Quercetina	36

Lista de tabelas

Tabela 1 - Diluições do padrão Trolox.....	24
Tabela 2 - Diluição das amostras.....	25
Tabela 3 – Preparo das soluções para curva padrão de Trolox.....	26
Tabela 4 - Diluição para o padrão de Ácido Gálico	28
Tabela 5 - Diluição para o padrão de Quercetina.....	28
Tabela 6 - IC50 Para as três espécies de Pitaia (<i>Hylocereus costaricensis</i> , <i>Hylocereus megalanthus</i> , <i>Hylocereus undatus</i>)	30
Tabela 7 - Índice de Atividade Antioxidante para sementes de Pitaias (<i>Hylocereus costaricensis</i> , <i>Hylocereus megalanthus</i> , <i>Hylocereus undatus</i>).....	30
Tabela 8 - IC50 segundo Choo e Yong (2011).....	31
Tabela 9 - Resultados ABTS (Expressos em μmol de Trolox/g amostra em base úmida)	32
Tabela 10 – Resultados Atividade antioxidante total (AAT) de extratos etanólicos pelo método ABTS μmol trolox/g de amostra.....	33
Tabela 11 - Resultados compostos fenólicos considerando amostra em base úmida para as espécies <i>Hylocereus megalanthus</i> , <i>Hylocereus costaricensis</i> , <i>Hylocereus undatus</i> expressos em EAG.....	34
Tabela 12 - Resultados Flavonoides considerando amostra em base úmida	36

Lista de abreviaturas e siglas

g - Grama

mL - Mililitro

µg - Micrograma

mg - Miligrama

FLV – Frutas, legumes e vegetais

DNT – Doenças não transmissíveis

ABTS - 2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino) 6-ácido sulfônico

DPPH – Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

AAT – Atividade Antioxidante Total

AAI – Antioxidant Activity Index (Índice de Atividade Antioxidante)

CF – Compostos Fenólicos

nm – Nanômetro

UV/VIS – Ultravioleta Visível

UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1.1	Objetivo Geral	13
2.1.2	Objetivos específicos	13
3	JUSTIFICATIVA	14
4	REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1	Aumento no consumo de frutas e vegetais segundo a OMS	15
4.2	Atividade Antioxidante em frutos	15
4.3	Antioxidantes	16
4.4	Pitaia (<i>Hylocereus</i> ssp.)	18
4.5	Métodos para determinação de atividade antioxidante	19
4.5.1	Fenólicos Totais	19
4.5.2	Flavonoides	20
4.5.3	DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)	21
4.5.4	ABTS (2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino) 6-ácido sulfônico)	22
5	MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1	Amostragem	23
5.2	Preparo dos extratos	23
5.2.1	Método	23
5.3	Determinação da atividade antioxidante pela metodologia DPPH	24
5.4	Determinação da Atividade antioxidante pelo método ABTS	26
5.5	Determinação de compostos fenólicos	27
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6.1	DPPH	30
6.2	ABTS (2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino) 6-ácido sulfônico)	32
6.3	Compostos Fenólicos	33
6.4	Flavonoides	35
7	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Para uma dieta saudável e rica em nutrientes como minerais, vitaminas e fibras, o consumo de frutas é essencial. Uma importância a mais tem sido dada a este tipo de alimento visto que o aumento de doenças não transmissíveis (DNT) como diabetes, doenças cardiovasculares, obesidade e até mesmo alguns tipos de câncer tem aumentado significativamente, fato este que está diretamente relacionado a má alimentação ou carência de determinados tipos de alimentos. Em média, mais de 6 milhões de mortes estão relacionadas a falta ou carência de frutas, legumes e vegetais no ano de 2010 (LIM et al., 2012).

Estudos realizados comprovam que o consumo de frutas legumes e vegetais (FLV) pode atuar diretamente na prevenção ou diminuição no risco de algumas doenças cardiovasculares (DAUCHET et al., 2006; HARTLEY et al., 2013), acidente vascular cerebral (HARTLEY et al., 2013), e até mesmo variados tipos de câncer (BOEING et al., 2012).

Além de possuírem um alto valor benéfico a saúde humana, as frutas podem também conter potencial antioxidante, que exerce um poder protetor a estes alimentos (KAUR; KAPOOR, 2002). Estas propriedades também são responsáveis por determinar um importante papel no nosso sistema digestivo, como o ato de fornecer vitaminas, sais minerais e principalmente fibras.

Os antioxidantes têm um papel muito importante no metabolismo humano, embora tenham propriedades ainda não conhecidas, sua principal capacidade é prevenir o dano oxidativo que sofrem as células do corpo (SURH, 2003). Estes antioxidantes são encontrados em vários alimentos para o ser humano, mas principalmente em alimentos que possuem diretamente na sua composição, aqueles ricos em carotenos, flavonoides, fenólicos e muitos outros.

O estresse oxidativo é uma condição que degrada e degenera a célula do corpo humano, faz com que no decorrer do tempo aquela célula não consiga mais praticar sua função de proteger, prevenir ou resguardar algum tipo de doença não transmissível. Neste sentido, a busca por antioxidantes naturais só tem aumentado, pelos efeitos benéficos que podem trazer a saúde, pois uma dieta rica em antioxidantes aumenta a defesa do organismo, retardando o envelhecimento celular e assim diminuirá o risco em desenvolver doenças (FAO, 2001).

Devido a crescente busca das pessoas por alimentos ricos em antioxidantes tem sido observado o aumento do consumo de frutas, tais como o abacaxi, a uva, o morango, a goiaba, o tomate, entre outros. Devido ao grande número de alimentos com este potencial, é tendencioso que cada vez mais alimentos sejam estudados. Fruto muito estudado nos últimos anos é a pitiaia, fruto que possui um grande potencial para contenção de doenças (ONU, 2012).

A pitiaia é um fruto típico de regiões tropicais, pertencente à família *Cactaceae*, que possui grande resistência devido a sua baixa necessidade de água e facilidade de permanência em climas quentes a pitiaia por si só atribui algumas propriedades como a atividade antioxidante (LUO et al., 2014; SUH et al., 2014). A pitiaia é uma fruta exótica que pode ser incorporada na dieta facilmente através de sucos, comida fresca e até mesmo por extratos.

A importância do consumo dessas frutas e hortaliças é essencial para redução de riscos de várias doenças. A pitiaia foi introduzida recentemente no Brasil, com produção comercial no Rio Grande do Sul, ainda assim boa parte da pitiaia que chega a nosso mercado é proveniente da Colômbia, um dos maiores produtores do fruto, fato esse que ainda mostra um crescimento de estudos na área.

2 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo Geral

Determinar as características antioxidantes contidas na semente de três espécies de pitaia: *Hylocereus undatus*; *Hylocereus costaricensis*; *Hylocereus megalanthus*.

2.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a capacidade antioxidante da semente das três espécies de pitaia através das seguintes técnicas gerais:
 - DPPH
 - ABTS
- Determinar a presença de compostos fenólicos e flavonóides

3 JUSTIFICATIVA

Os frutos de modo geral desempenham um grande papel nutricional em nosso organismo, fornecendo fibras, vitaminas e minerais. Porém muitos frutos possuem capacidade e propriedades que não são encontradas na região onde estamos inseridos como os antioxidantes, capazes de diminuir ou prevenir doenças retardando o envelhecimento celular.

Deste modo o estudo da capacidade antioxidante da semente da pitiaia, visará o quão o fruto pode ser benéfico para a saúde, diminuindo o dano celular e repondo as vitaminas que não são sintetizadas pelo organismo.

Com o agregado de dados obtidos neste estudo, campanhas de conscientização e o enriquecimento intelectual da população em relação a determinados tipos de doenças, podem ajudar a prevenir milhões de doenças já citadas que se tornam crônicas na maioria das vezes pela falta de nutrientes necessários para suprir demanda de alguma vitamina. Assim os dados que serão obtidos a partir do presente trabalho, poderão ajudar na compreensão das propriedades da semente deste fruto, podendo futuramente serem empregados em dietas restritas, indicações farmacêuticas e também usados em tabelas de informação nutricional.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Aumento no consumo de frutas e vegetais segundo a OMS

A importância de uma alimentação saudável a base de frutas, legumes e vegetais (FLV) está diretamente relacionada a uma vida saudável e a diminuição no risco de doenças crônicas as doenças não transmissíveis (DNT) que são o principal fator na causa de mortalidade e incapacidade no mundo, representando cerca de 60% dos 56,5 milhões de óbitos anuais (OMS, 2002).

Estes alimentos devem compor as principais refeições, periodicamente na vida de cada pessoa e não estar presente somente em lanches ocasionais ou raramente serem consumidos (Ministério da Saúde, 2005). A falta ou o consumo insuficiente de FLV está entre as dez maiores causas globais em relação a doenças de risco. Fato que também pode ser agravado com atividades inadequadas para o corpo humano como o consumo frequente do cigarro, a prática do tabagismo, vidas sedentárias, a falta de atividade física juntamente com uma alimentação inadequada pode trazer resultados ruins para a saúde humana (OMS, 2011).

Uma alimentação adequada requer o consumo de pelo menos 400g/dia de FLV para que assim possa obter um ganho nutricional expressivo na prevenção e diminuição de doenças crônicas não transmissíveis (OMS, 2002). Deste modo a organização mundial da saúde estuda e planeja estratégias para conscientizar e aumentar o consumo de frutas, legumes e vegetais

Dentre as estratégias previstas pela OMS, a principal envolve a maior conscientização geral sobre a função das frutas na prevenção de DNT juntamente com ações e medidas essenciais nas áreas de saúde e agricultura sobre o consumo de frutas e verduras. O apoio e incentivo nas pesquisas para desenvolvimento e implantação de programas nacionais de promoção para consumo de frutas que sejam acessíveis e sustentáveis a todos os setores e classes faz parte também é um dos objetivos a serem cumpridos (OMS, 2002).

4.2 Atividade Antioxidante em frutos

Combater o dano oxidativo das células é um item muito importante, este fato se torna viável já que o Brasil é o terceiro maior produtor de frutas ficando atrás somente da Índia e China (DUARTE, 2013). De acordo com o Departamento de Economia Rural (2020), o Brasil teve uma produção estimada de 42.101 milhões de toneladas no ano de 2011 referente apenas a 20 espécies de frutas. Fatos ainda beneficiam o Brasil na produção de frutas, como a grande área territorial e o clima agradável e típico para a fruticultura durante o ano todo.

Com inúmeros fatores favoráveis a prática da fruticultura, surge outra vertente levando a parte benéfica do fruto a minimizar doenças. A propriedade antioxidante existente na semente dos frutos, baseia-se no quão potencial pode ser a saúde humana, auxiliando principalmente e diretamente no envelhecimento celular.

Pesquisas realizadas demonstraram que extratos de polifenóis da fruta pitaita têm propriedades antioxidante. Oligossacarídeos de *Hylocereus undatus* tem características de probióticos, resistentes as condições ácidas estomacais, e resiste também a enzima responsável por fragmentar polissacarídeos α -amilase (WICHENCHOT et al., 2010).

4.3 Antioxidantes

Os antioxidantes podem ser definidos como moléculas que são capazes de prevenir ou retardar o envelhecimento da célula, onde ocorre a perda de um ou mais elétrons. A oxidação, pode acontecer através dos radicais livres e aqueles, sem radicais livres, onde a reatividade é totalmente capaz de induzir o substrato a ser passado pelo processo oxidativo. (PEREZ, AGUILAR, 2013).

De modo geral os radicais responsáveis, hidroxilas e peroxilas, radicais estes de oxigênio, em conjunto com o anión superóxido, são responsáveis por desempenhar um papel muito importante no corpo humano, o equilíbrio das reações fisiológicas e bioquímicas ao qual nosso corpo passa a todo momento. Porém, quando há uma produção excessiva desses radicais no corpo humano durante processos patofisiológicos ou a fatores ambientais diversos e não existem antioxidantes suficientes disponíveis, pode ocorrer danos, doenças e degradação profunda em tecidos (MOLYNEUX, 2004; HUANG et al, 2005).

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com suas características bioquímicas, funções e também o local onde desenvolvem sua atividade. Deste modo, segundo Pérez e Aguilar (2013) os antioxidantes são classificados em três tipos:

Primário: Evita a formação de novos radicais livres, convertendo-os assim em moléculas menos nocivas e danosas as células, antes que elas possam reagir ou impedir a formação de radicais livres de outras moléculas (por exemplo, proteínas que se ligam a metais, ferritina, transferrina e ceruloplasmina) limitando a disponibilidade de ferro necessário para formar o radical OH.

Secundário: São aqueles que capturam os radicais livres, prevenindo reações em cadeia (vitamina E ou α -tocoferol, vitamina C ou ácido ascórbico, β -caroteno, ácido úrico, bilirrubina, albumina, ubiquinol-10, metionina).

Terciário: Estes por sua vez reparam os danos causados por radicais livres das biomoléculas (por exemplo, enzimas de reparo de DNA e metionina sulfóxido redutase).

Além desta classificação, os antioxidantes também podem ser classificados em outros dois grupos que relacionam sua solubilidade em água, ou seja, hidrofílicos ou hidrofóbicos. Os antioxidantes solúveis em água, irão reagir com o citoplasma celular e no plasma do sangue, já os lipossolúveis protegem as membranas das células contra a peroxidação lipídica (PERÉZ, AGUILAR, 2013).

Mesmo os antioxidantes possuindo alto valor benéfico ao corpo humano, os seres vivos possuem uma complexa rede de metabólitos antioxidantes e enzimas que trabalham juntas para prevenir o dano oxidativo sobre os componentes das células, como o DNA, proteínas e lipídios (DEVASAGAYA et al 2004).

Antes que estas espécies reativas possam causar dano sobre componentes vitais da célula, os antioxidantes atuam na prevenção. As células danificadas por oxidantes são provenientes das reações químicas em cadeia devido a processos como peroxidação de lipídeos, oxidação do DNA ou danos sobre as proteínas, que podem até mesmo causar câncer se não revertido por meio de mecanismos de reparo do DNA, enquanto os danos sobre as proteínas causarão a inibição das enzimas, desnaturação e, conseqüentemente, a degradação das proteínas (DEVASAGAYA et al, 2004).

Uma avaliação completa da concentração total de antioxidantes em vários alimentos faz-se necessário, pois é ideal para que seja possível a identificação de alimentos com alto valor de atividade antioxidante

4.4 Pitaia (*Hylocereus ssp.*)

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

O fruto mede de 10 a 12 centímetros de diâmetro e é vermelho ou amarelo, coberto com “escamas”. Possuindo polpa doce de cor branca ou avermelhada. As sementes possuem em média 3 milímetros de diâmetro e são muito numerosas, distribuídas em toda a polpa e são ricos em óleos essenciais (EDWARD, 2001).

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

No Brasil, há poucas regiões que cultivam a fruta, o que resulta na importação e elevação dos preços. No Brasil, a pitaia começou a ser cultivada na década de 1990, no estado de São Paulo, e na região de Catanduva-SP (o principal produtor no território nacional).

No Brasil, as variedades comercialmente disponíveis são *Hylocereus undatus*, frutas com casca rosa avermelhada, polpa branca e sementes escuras (Figura 1). A espécie *Hylocereus costaricensis* ou *Hylocereus polyrhizus* (Figura 1) possui casca rosa avermelhada e polpa vermelha púrpura brilhante. A espécie *Hylocereus megalanthus* possui casca amarela e polpa branca (Figura 1) (BASTOS et al., 2006).

Figura 1 - *Hylocereus costaricensis* (esquerda), *Hylocereus megalanthus* (centro), *Hylocereus undatus* (direita)



Fonte: Autoria própria

4.5 Métodos para determinação de atividade antioxidante

4.5.1 Fenólicos Totais

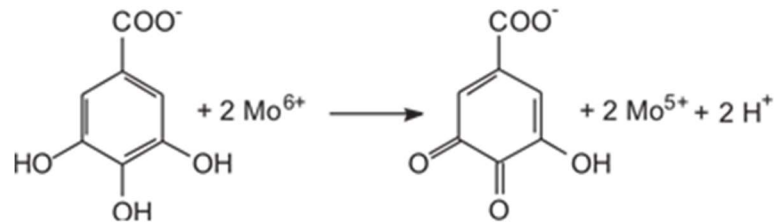
Para determinação de fenólicos totais o método mais utilizado é o espectrofotométrico de *Folin-Ciocalteu* proposto por Singleton & Rossi (1965).

O reagente de *Folin-Ciocalteu* é composto de sais de tungstato de sódio e molibdato de sódio em meio de ácido clorídrico e ácido fosfórico (o qual fornece a cor amarelada ao reagente). A cinética da reação ocorre devido a presença de espécies redutoras (tais como os compostos fenólicos) onde ocorre a redução desses sais, para estados de oxidação entre V e VI, e formação das espécies reduzidas, denominadas complexos de molibdênio-tungstênio, os quais desenvolvem uma coloração azul, cuja intensidade é proporcional ao número de hidroxilas ou grupos potencialmente oxidáveis nos compostos fenólicos.

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

É possível de se observar o desenvolvimento da reação (Figura 2) em um espectrofotômetro ($\lambda=725$ nm). A reação demonstra um composto fenólico redutor e a espécie oxidante presente no Reagente de Folin:

Figura 2 - Reação geral na determinação de fenólicos totais



Fonte: PERES-JIMENEZ; NEVEU; SCALBERT, 2010

Todas substâncias reduzidas pelo reagente de *Follin-Ciocalteu* são detectadas através do método, porém não obrigatoriamente refletindo os compostos fenólicos totais. Como este é um método não específico, a vitamina C, carboidratos ou minerais, como o Cu (I) podem participar da reação, figurando como interferente desta análise. Esse método não apresenta dados quantitativos e qualitativos dos constituintes fenólicos.

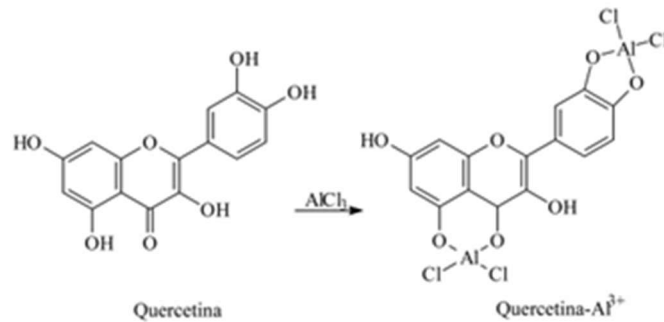
4.5.2 Flavonoides

Os flavonóides podem prevenir processos de estresse oxidativo, que causam a morte celular como a degeneração de neurônios e membranas celulares (Mal de Parkinson e Alzheimer) e de câncer, em função dos danos causados às moléculas de DNA pelos radicais livres (DÔRES, 2007). O grupo dos flavonóides é também conhecido como polifenólicos e geralmente ocorrem em plantas na forma de glucosídeos, sendo uma das substâncias responsáveis pela atribuição do perfil sensorial de frutas, atribuindo-lhes o corpo característico. Mais de 6.000 diferentes estruturas já foram identificadas e este número continua a aumentar (AHERNE; O'BRIEN, 2002; BOBBIO, 1989; CORDENUNSI *et al.*, 2002; SLUIS *et al.*, 2001).

Para determinação de flavonoides, o método baseia-se na reação de complexação com o metal alumínio. O método original (Down 1959) propõe uma reação onde a estequiometria entre a quercetina (padrão de referência) e o cloreto de alumínio é de 1 para 1 (BOROSKI *et al.*, 2015).

Com a reação dos antioxidantes e o alumínio é formado um complexo amarelo, realizando assim a identificação (Figura 3). Reação esta que pode ser observada em espectrofotômetro a 425 nm. A reação padrão de formação do complexo estável de alumínio e as espécies de flavonoides é apresentada a seguir:

Figura 3 - Reação geral de flavonoides na presença de alumínio.

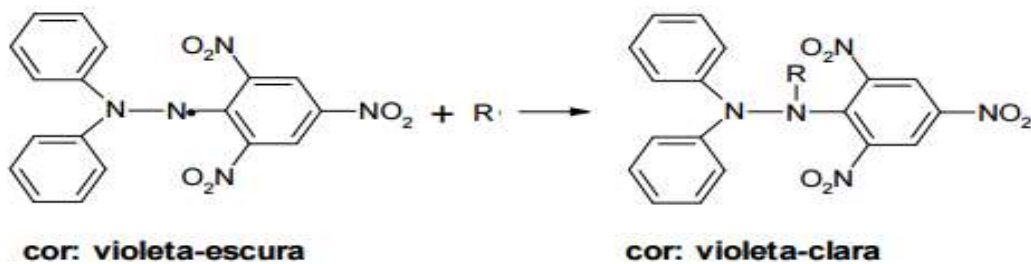


Fonte: BOROSKI et al., 2015.

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

A metodologia DPPH (BRAND et al., 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância em 515 nm. O DPPH possui um átomo de nitrogênio que está ligado diretamente ao anel, este átomo de nitrogênio possui um elétron desemparelhado, caracterizando o mesmo como um radical. Esse nitrogênio é responsável pela estabilização do DPPH junto com a espécie antioxidante (Figura 4), assim ocorre a mudança da coloração da solução (devido a alteração do seu grupo cromóforo).

Figura 4 - Coloração roxo escuro (esquerda), tonalidades mais claras (direita).



Fonte: BRAND et al., 1995.

A metodologia DPPH sofreu algumas alterações com o tempo para medição de parâmetros cinéticos. Tais mudanças foram realizadas buscando garantir a estabilidade das soluções e reagentes utilizados.

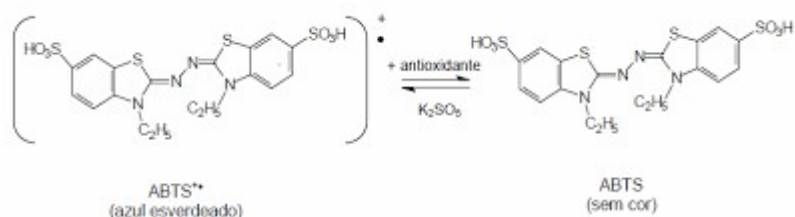
4.5.4 ABTS (2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino) 6-ácido sulfônico)

O seguinte método baseia-se na geração do ABTS⁺, de cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante ocorre a redução do ABTS⁺, promovendo a perda da coloração do meio reacional, como é observado na Figura 4. Com a extensão da perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS⁺ é determinada em função do Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante.

O método ABTS⁺, é simples e pode ser avaliado em diferentes faixas de pH, o que torna essa metodologia importante para conhecimento do efeito do pH em mecanismos oxidantes. Porém, esse método tem a limitação de não ser um representante das biomoléculas e nem mesmo ser encontrado em nenhum sistema biológico. Destaca-se, ainda, que termodinamicamente, qualquer componente que apresente um potencial redutor menor que este radical pode reagir com o mesmo (MAGALHÃES et al., 2008).

O método é aplicável ao estudo de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais (RE et al., 1999). A redução do radical ABTS por um antioxidante (Figura 5) é mostrada a seguir:

Figura 5 - Redução do radical ABTS por um antioxidante



Fonte: RUFINO et al. (2007)

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Amostragem

As pitaias foram adquiridas através do comércio, sendo conservadas em geladeira antes da extração para evitar degradação do fruto.

Os ensaios foram realizados nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo (UTFPR).

As amostras foram escolhidas de forma aleatória para o ensaio, uma amostra para cada tipo de ensaio a partir de cada espécie da fruta, posteriormente cortadas ao meio, separando a casca da polpa, e posteriormente reservando as sementes contidas na polpa para os ensaios.

Para a separação das sementes, foi utilizado tamis número 30 com abertura de 0,59 mm. Deste modo a polpa contendo as sementes foi processada e posteriormente passada ao Tamis para a separação total das sementes. As mesmas foram lavadas com água destilada e deixadas secar a temperatura ambiente.

Para os ensaios de antioxidantes, compostos fenólicos e flavonoides, as sementes foram trituradas através de almofariz e pistilo, para garantir a completa extração em solução alcoólica 70%.

5.2 **Preparo dos extratos**

5.2.1 Método

Os extratos da semente *in natura* foram obtidos a partir de 2,000 g de amostra previamente processadas e trituradas.

Com as sementes processadas e trituradas, pesou-se aproximadamente 2,000 g de amostra em um erlenmeyer de 50 mL seco e limpo. Na sequência adicionou-se 10 mL de etanol 70 % e agitou-se em vórtex por aproximadamente 2 minutos. Após esta etapa, a solução foi colocada em agitação durante 60 min em agitadora orbital ao abrigo da luz.

Posteriormente as amostras foram filtradas em papel filtro à vácuo, avolumando para balão volumétrico de 25 mL com etanol 70 %.

5.3 Determinação da atividade antioxidante pela metodologia DPPH

Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método do DPPH, segundo Choi et al. (2002). Os extratos foram avaliados em diferentes concentrações e cada concentração realizada em triplicata assim como os padrões conforme Tabela 1 e 2. Posteriormente a mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente por 1 hora. Realizou-se as leituras das absorvâncias a 517 nm, onde o radical DPPH apresenta o máximo de absorção. Para o controle negativo se utilizará da solução de DPPH 0,06 mM com 2,5 mL de metanol. Para o branco será utilizado o metanol e como padrão será utilizado o Trolox para equivalência.

Para cada solução estoque, pesou-se 25,0 mg de padrão de Trolox (Sigma Aldrich®) para um balão volumétrico de 50 mL com etanol ([trolox] = 2000 μ M), em seguida a solução foi homogeneizada e diluída conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Diluições do padrão Trolox

Vol. da Sol. Padrão (mL)	Volume de etanol (mL)	Concentração (μ M)
0,5	9,5	100
2,5	7,5	500
5,0	5,0	1000
7,5	2,5	1500
10	0	2000

Depois de realizado as diluições, pipetou-se 30 μ L de cada solução padrão transferindo para tubos de ensaio, adicionando 2,0 mL de solução de DPPH (0,06 mM) mantendo as soluções em abrigo da luz por 60 minutos.

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

Tabela 2 - Diluição das amostras

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

Após a obtenção de cada solução, pipetou-se 0,5 mL em tubo de ensaio, com 2,0 mL da solução de DPPH, deixando as amostras em repouso por 60 minutos ou até a completa estabilização da coloração em tubo ao abrigo da luz, obtendo assim soluções com concentração de 0,5 à 10 mg·mL⁻¹.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi expressa em percentual de inibição de oxidação do radical calculado conforme a equação:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{(A_0 - A_1) \times 100}{A_0}$$

Onde: A₀ é a absorbância da solução de DPPH e A₁ é a absorbância da amostra em solução. A₁ será calculado com base na diferença da absorbância da solução da amostra em teste com seu branco.

Com a redução do radical DPPH, ocorre a redução de sua absorbância, e assim, permite calcular a quantidade de antioxidante capaz de inibir 50 % desse radical (IC₅₀). (SCHERER; GODOY, 2009).

O Índice de Atividade Antioxidante (AAI) é obtido através da seguinte equação:

$$\text{AAI} = \frac{\text{Concentração final de DPPH (mg mL}^{-1}\text{)}}{\text{IC}_{50} \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}}$$

O AAI pode ser usado para uniformizar os resultados obtidos, já que independe das concentrações da amostra e do DPPH. Assim, o resultado obtido para a atividade

antioxidante independe da concentração da solução de DPPH utilizada na análise amostra de DPPH (SCHERER e GODOY, 2009).

Considera-se ação antioxidante fraca quando o AAI < 0,5, ação moderada quando o AAI estiver entre 0,5 e 1,0, ação antioxidante forte quando o AAI for de 1,0 a 2,0, e ação muito forte para valor de AAI > 2,0 (SCHERER; GODOY, 2009).

5.4 Determinação da Atividade antioxidante pelo método ABTS

A determinação pelo método ABTS foi realizada conforme metodologia descrita por RUFINO et al (2007). O radical $ABTS^{\cdot+}$ é formado pela reação da solução de persulfato de potássio 140 mM com a solução $ABTS^{\cdot+}$ 7 mM, após ser mantido ao abrigo da luz, a 25 °C, durante 12 a 16 horas. Obtido o radical, este será diluído com etanol, até a obtenção da absorbância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. Para cada tratamento, serão preparadas três diluições diferentes, em triplicata. Ainda ao abrigo da luz, será transferido 30 μ L de cada diluição do extrato para tubos de ensaio contendo 3 mL do radical $ABTS^{\cdot+}$. Após 6 minutos de reação e utilizando etanol como branco, foi realizado a leitura a 734 nm. Como referência utilizou-se o Trolox, um antioxidante sintético, nas concentrações de 100 a 2000 μ Mol. Os resultados da atividade antioxidante serão expressos em μ mol Trolox/ grama amostra.

O preparo do padrão foi realizado pesando 25 mg de Trolox para balão volumétrico de 50 mL avolumado com álcool etílico.

Tabela 3 – Preparo das soluções para curva padrão de Trolox

Solução Padrão de Trolox (mL)	Álcool Etílico (mL)	Concentração Final (μ mol)
0,5	9,5	100
2,5	7,5	500
5,0	5,0	1000
7,5	2,5	1500
10	0	2000

Após o preparo de cada solução padrão, transferiu-se uma alíquota de 30 μ L de cada concentração da curva padrão de Trolox para tubos de ensaio contendo 3,0 mL da solução ABTS 7 mM e homogeneizou-se. A medida da absorbância da mistura foi realizada após 6 min, foi utilizado álcool etílico como branco para calibrar o

espectrofotômetro. Plotando as concentrações de trolox obtém-se a equação da reta. A partir da equação da reta, calcula-se a absorvância referente a 1000 µmol de trolox (NENADIS et al., 2004).

$$Y = -ax + b$$

Com o extrato já obtido, transferiu-se uma alíquota de 30 µL do extrato para tubo de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e homogeneizou-se em agitador vórtex.

A leitura foi realizada após 6 min, em 734 nm. Como branco foi utilizado o álcool etílico para calibrar o espectrofotômetro. O resultado é obtido pela equação da reta onde a absorvância é correspondente a 1000 µM trolox.

5.5 Determinação de compostos fenólicos

O preparo da curva de calibração foi realizado a partir de três soluções estoques. Para cada solução pesou-se 20,0 mg de padrão de ácido gálico (Sigma Aldrich) e diluiu em balão volumétrico de 100 mL com água destilada resultando na concentração de Ácido Gálico de 200 µg.mL⁻¹.

A partir dos extratos das sementes previamente preparados foi coletado uma alíquota de 2,0 mL e transferida para tubos de ensaio protegido da luz. Em seguida adicionou-se 2,5 mL do reagente Folin Ciocalteau (Sigma Aldrich) diluído. A mistura permaneceu em repouso de 3 a 8 minutos, posteriormente adicionando 2 mL de carbonato de sódio 4 % e os tubos deixados em repouso por 1 hora, ao abrigo da luz. Um preparo de amostra foi realizado igualmente, mas com a ausência de extrato o qual foi utilizado como branco no momento da leitura. A tabela 4 apresenta a curva dos padrões utilizada.

Tabela 4 - Diluição para o padrão de Ácido Gálico

Alíquota (mL)	Balão Volumétrico (mL)	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Alíquota (mL)	Balão (mL)	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
16,00	100,00	32,00	3,13	20	5,00
			4,69	20	7,50
			6,25	20	10,00
			8,75	20	14,00
			10,63	20	17,00
			12,50	20	20,00

Medir a absorvância em espectrofotômetro a 760 nm. Os resultados dos compostos fenólicos totais devem ser expressos em equivalente de ácido gálico, com base na equação da reta da curva de calibração de ácido gálico previamente preparada e lida:

$$Y = AX + B$$

Y = absorvância

A = coeficiente angular

X = concentração de ácido gálico (colocar a unidade)

B = coeficiente linear

5.6 Determinação de Flavonoides

O preparo da curva de calibração foi realizado a partir de três soluções estoques. Para cada estoque pesou-se 10,0 mg de padrão de quercetina (Sigma-Aldrich) e diluiu-se em balão volumétrico de 5 mL com metanol conforme Tabela 5.

Tabela 5 - Diluição para o padrão de Quercetina

Volume da solução Estoque Padrão (μL)	Balão Volumétrico (mL)	Concentração mg L^{-1}
50,0	10	10,0
150,0	10	30,0
250,0	10	50,0
400,0	10	80,0
500,0	10	100,0

Com os extratos da semente já preparados, foi coletado uma alíquota de 1,0 mL e transferida para tubos de ensaio protegido da luz. Logo após adicionou-se 0,25 mL do cloreto de alumínio 5 % (Sigma-Aldrich) e 3,70 mL de metanol (Vetec). A mistura permaneceu em repouso por meia hora, ao abrigo da luz. Um preparo de amostra foi seguido igualmente, porém sem adição extrato, a mesa será utilizada como branco. Medir a absorbância em espectrofotômetro a 425 nm. Os resultados dos flavonoides devem ser expressos em equivalente de quercetina, com base na equação da reta da curva de calibração de ácido gálico previamente preparada e lida.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DPPH

A capacidade antioxidante por DPPH das três espécies de semente de Pitaia se deu pela determinação do IC50, que é a concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50 % o radical DPPH, sendo que quanto menor o IC50, maior a atividade antioxidante do material.

Foram construídas curvas de concentrações diferentes para cada amostra e na sequência inferido qual o valor necessário para o consumo de 50 % do radical DPPH a partir da equação da reta obtida para cada curva. A Tabela 6 mostra os resultados médios de IC 50 obtidos para cada semente de cada espécie a partir da construção das curvas e o valor obtido pela extrapolação dos 50 % de inibição.

Tabela 6 - IC50 Para as três espécies de Pitaia (*Hylocereus costaricensis*, *Hylocereus megalanthus*, *Hylocereus undatus*)

ID	Amarela (<i>Hylocereus megalanthus</i>)	Vermelha (<i>Hylocereus costaricensis</i>)	Branca (<i>Hylocereus undatus</i>)
A	0,0030	0,0040	0,0043
B	18,0123	10,2749	9,9402
R ²	0,9941	0,9838	0,9943
IC50 (mg mL ⁻¹)	10,66	9,93	9,32
Média		9,97 ±2,07	

O Índice de Atividade Antioxidante (AAI) é apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 - Índice de Atividade Antioxidante para sementes de Pitaias (*Hylocereus costaricensis*, *Hylocereus megalanthus*, *Hylocereus undatus*)

-	Amarela (<i>Hylocereus megalanthus</i>)	Vermelha (<i>Hylocereus costaricensis</i>)	Branca (<i>Hylocereus undatus</i>)
AAI	0,0018	0,0019	0,0021

Na Tabela 6 estão compilados os valores de IC50 para cada espécie. Uma vez que quanto menor o valor obtido maior a atividade antioxidante da amostra, fica claro

a superioridade antioxidante da semente da pitiaia branca em relação as outras espécies por esse método.

É possível avaliar a concordância entre os resultados a partir do trabalho de Choo W.S. e Yong W.K. (2011), onde o estudo para o DPPH foi executado para os mesmos frutos, porém porções do fruto diferentes do presente trabalho, onde os valores encontrados tem uma média de IC50 igual a $9,97 \pm 2,07 \text{ mg mL}^{-1}$, valores estes que estão próximos dos valores obtidos no presente estudo conforme segue na Tabela 8.

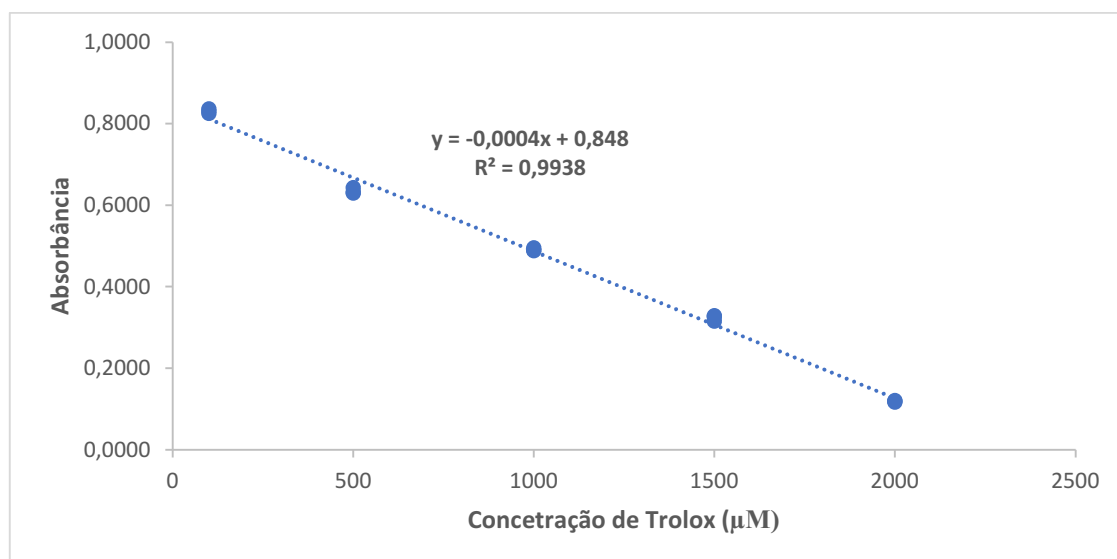
Tabela 8 - IC50 segundo Choo e Yong (2011)

Espécie	Porção do fruto	IC50 (mg mL⁻¹)
<i>Hylocereus costaricensis</i>	Casca	$9,53 \pm 1,05$
(Pitaia vermelha)	Polpa	$2,03 \pm 0,22$
<i>Hylocereus undatus</i>	Casca + Polpa	$7,48 \pm 0,65$
(Pitaia branca)	Polpa	$0,84 \pm 0,08$

6.2 ABTS (2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino) 6-ácido sulfônico)

Para determinação da atividade antioxidante total pelo método ABTS, utilizou-se da equação da reta obtida na curva de calibração do padrão de Trolox, conforme a Figura 6.

Figura 6 - Curva Padrão Trolox para determinação da atividade antioxidante



Fonte: Autoria própria

Com a obtenção da equação da reta, calculou-se a absorbância referente a 1000 μmol L⁻¹ de Trolox. Substituindo na equação da reta o valor de x igual a 1000, deste modo tem-se uma absorbância correspondente, considerando “y” a absorbância correspondente a 1000 μmol L⁻¹ de Trolox.

Os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados ABTS (Expressos em μmol de Trolox/g amostra em base úmida)

[] extrato (mg.L ⁻¹)	Amarela (<i>Hylocereus megalanthus</i>) μmol de Trolox/g de amostra	Vermelha (<i>Hylocereus costaricensis</i>) μmol de Trolox/g de amostra	Branca (<i>Hylocereus undatus</i>) μmol de Trolox/g de amostra
Média (μmol de Trolox/g amostra)	17,79	10,74	12,07
Média geral		13,54	
DPR	2,38	3,51	2,18

Levando em consideração a massa de extrato obtida, temos em 1 g de amostra compostos capazes de inibir o cátion radicalar ABTS de maneira equivalente a 17,79

μmol de Trolox na pitaia amarela; $10,74 \mu\text{M}$ de Trolox na pitaia vermelha e $12,07 \mu\text{mol}$ de Trolox na pitaia branca.

Os radicais empregados nestas análises não são encontrados naturalmente em sistemas biológicos. Além disso por meio do método ABTS não é possível avaliar a capacidade antioxidante de nenhum composto com potencial redox menor do que o mesmo, porém a determinação da capacidade antioxidante através da captura do $\text{ABTS}^{\cdot+}$ é extremamente aplicada na análise de vegetais, frutas, plantas medicinais, cereais, vinhos, óleos essenciais e bebidas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Sua ampla aplicação se deve ao fato de ser considerada uma técnica prática, rápida, de alta sensibilidade e que produz resultados confiáveis, além de utilizar um cátion radical muito estável.

Na Tabela 10, são apresentados os dados de extratos de diferentes espécies de frutos.

Tabela 10 – Resultados Atividade antioxidante total (AAT) de extratos etanólicos pelo método ABTS μmol trolox/g de amostra.

Extrato	μM trolox g-1 de amostra
Araçá	$150,2 \pm 14,1^*$
Pitanga	$4502,57 \pm 353,14$ a $13668,41 \pm 200,87^{**}$

*Nora (2012).

**Fetter et al. (2009)

Nora (2012) através da utilização do método ABTS para atividade antioxidante obteve $150,2 \mu\text{mol}$ trolox/ g de fruto de araçá vermelho, valor este superior ao encontrado no presente trabalho que foi média de $13,54 \mu\text{mol}$ trolox/ g de amostra.

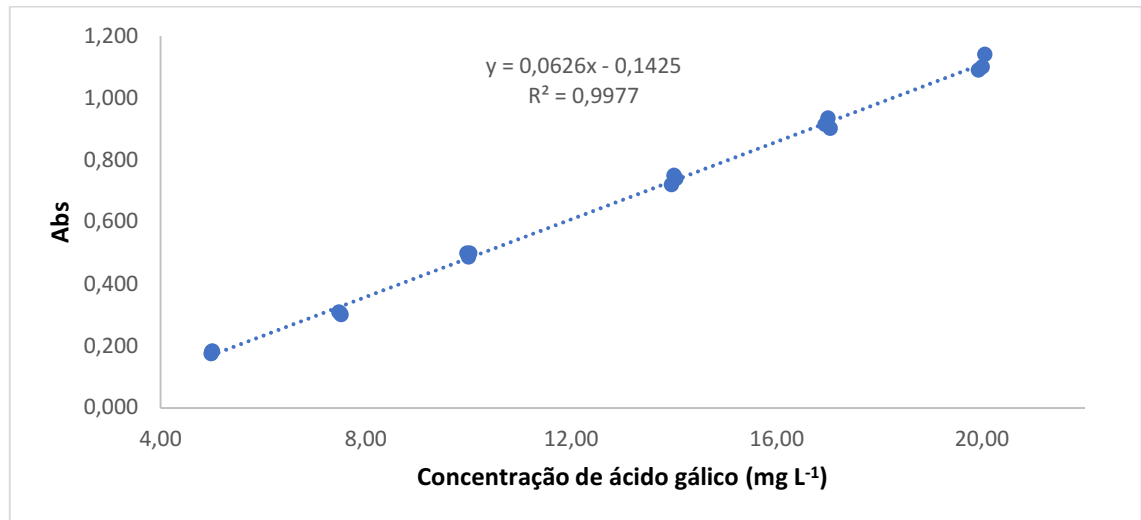
Fetter et al. (2009), em sua pesquisa, utilizou frutos de pitanga em diferentes épocas de maturação e obteve valores variando de $4502,57 \pm 353,14$ a $13668,41 \pm 200,87 \mu\text{mol}$ trolox/ g de peso fresco, valores estes também superiores aos valores encontrados no presente trabalho.

6.3 Compostos Fenólicos

A determinação do conteúdo de fenólicos totais das três espécies de pitaia se deu pelo doseamento equivalente em ácido gálico (EAG) a partir da curva de calibração de ácido gálico (Figura 7). A curva foi construída com cada ponto preparado

em triplicata compreendendo uma concentração de 5,00 mg L⁻¹ até 20,00 mg L⁻¹ de ácido gálico. A seguir podemos observar a resposta linear da curva e a equação utilizada para avaliar os resultados das amostras.

Figura 7 - Curva padrão de ácido gálico



Fonte: Autoria própria

Determinada a curva padrão, as amostras de semente foram analisadas e o conteúdo de fenólicos totais determinado.

A Tabela 11 mostra os resultados de compostos fenólicos obtidos para as sementes das três espécies de pitaia.

Tabela 11 - Resultados compostos fenólicos considerando amostra em base úmida para as espécies *Hylocereus megalanthus*, *Hylocereus costaricensis*, *Hylocereus undatus* expressos em EAG

ID	Amarela (<i>Hylocereus megalanthus</i>)	Vermelha (<i>Hylocereus costaricensis</i>)	Branca (<i>Hylocereus undatus</i>)
Média das réplicas expresso em EAG por 100 g de semente	13,76	11,16	15,80
DPR	0,91	0,99	1,23

Um estudo comparativo de Nurul e Asmah (2014), onde frutos da espécie *Hylocereus costaricensis* (pitaia vermelha) foram coletados na Malásia e Austrália e analisado frente aos mesmos métodos, o conteúdo de fenólicos totais em extrato

úmido da polpa foi de $70,24 \pm 1,65$ mg EAG por 100 g para o fruto oriundo da Malásia e $72,80 \pm 4,80$ mg EAG por 100 g para o fruto de origem australiana. De acordo com Nurliyana et al.(2010), o fruto da espécie *Hylocereus undatus* (pitaia branca) apresenta conteúdo de fenólicos totais em extrato úmido $36,12$ mg EAG por 100 g para a casca e $3,75$ mg EAG por 100 g.

Quando comparamos com o restante das porções do fruto, pode-se notar que o conteúdo de fenólicos totais presente na semente é mais baixo em relação ao restante do fruto. Em estudo comparativo com Diniz (2017), que estudou duas espécies do fruto, somente casca e polpa, é possível observar que a maior composição de fenólicos totais está na polpa e na casca, onde os resultados encontrados em amostra fresca para a casca da espécie *Costaricensis* foram de $44,80 \pm 3,96$ mg EAG/100 g e $66,75 \pm 5,25$ mg EAG/100g para a polpa. A espécie *Undatus* a casca apresenta os valores encontrados de $33,67 \pm 1,59$ mg EAG/100 g de amostra fresca e a polpa $52,36 \pm 5,30$ mg EAG/100 g de amostra fresca.

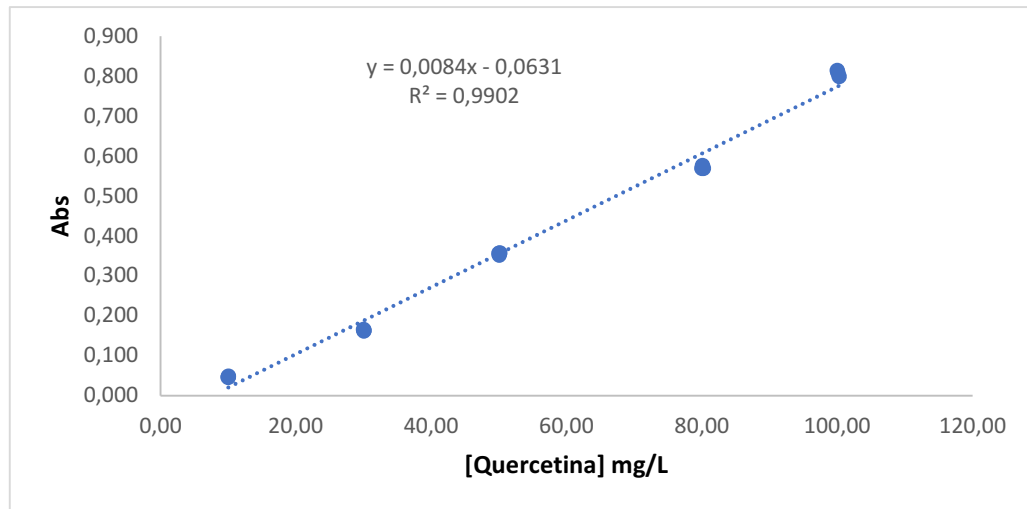
Nota-se a diferença entre os dados da literatura e os encontrados experimentalmente. As diferenças encontradas podem ser explicadas por fatores que envolve a técnica de plantio, região onde foi coletado, maturação do fruto, variações genéticas, e até mesmo pelo plano amostral, levando em conta que a semente constitui uma mínima parte do fruto como um todo.

Com o conjunto de dados obtidos fica evidente a diferença entre o conteúdo de fenólicos totais entre as diferentes partes do fruto.

6.4 Flavonoides

A determinação de flavonoides das três espécies de pitaia se deu pelo doseamento equivalente quercetina (EQ) a partir da curva de calibração de quercetina (Figura 8). A curva foi construída com cada ponto preparado em triplicata compreendendo uma concentração de $10,00$ mg L⁻¹ até $100,00$ mg⁻¹ de quercetina. A seguir podemos observar a resposta linear da curva e a equação utilizada para avaliar os resultados das amostras.

Figura 8 - Curva Padrão Quercetina



Fonte: Autoria própria

Com a equação da regressão linear, é possível se obter, os resultados do teor de flavonoides presentes nas sementes de pitaiá, estes sendo expressos em mg EQ L⁻¹ (mg de equivalente de quercetina por Litro de amostra).

Tabela 12 - Resultados Flavonoides considerando amostra em base úmida

ID	Amarela (<i>Hylocereus megalanthus</i>)	Vermelha (<i>Hylocereus costaricensis</i>)	Branca (<i>Hylocereus undatus</i>)
Média	1,53	1,42	1,61
DPR	2,60	2,74	0,46

Com os resultados obtidos, fica evidente que por se tratar de uma parte tão específica do fruto e levando em consideração o total, como a polpa e a casca, os dados obtidos tendem a serem menos menores e apresentarem um potencial mais baixo de compostos fenólicos.

Os flavonoides são responsáveis pela coloração de alguns frutos e folhas e quando comparamos o conteúdo da semente com o conteúdo da casca e polpa, é possível notar a diferença, tendo na polpa e na casca uma maior concentração de flavonoides, conforme resultados encontrados por Diniz (2017), que avaliou a polpa e

casca do fruto, a espécie *Undatus* apresentou para a polpa $4,77 \pm 0,31$ mg EQ/ g enquanto a casca obteve $13,93 \pm 0,91$ mg EQ/g, já para a espécie *Costarisensis* os valores encontrados foram de $5,03 \pm 0,10$ mg EQ/ g enquanto a casca obteve $13,64 \pm 0,62$ mg EQ/ g, neste caso todos os valores considerando base seca.

Tais resultados de flavonoides podem ser correlacionados com as partes do fruto, pois a parte do fruto que apresenta maior tonalidade de cores, no caso a casca, também apresentam maiores composições de flavonoides, assim como a polpa, ao contrário da semente que tem ausência de cores.

Comparando com estudos segundo Taganas W.R. et al., (2015), a casca da espécie de pitaia *hyoldepadrreus undatus* (pitaia branca) apresenta 5,71 mg EQ por grama de amostra seca. Existe coerência entre os resultados, contudo a comparação se torna difícil, pois varia-se muito o padrão utilizado como referência nesse teste e o estudo de antioxidantes envolvendo a semente de pitaia é escasso na literatura.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos para a atividade antioxidantes das sementes das três espécies de pitaias estudadas, pode-se observar que o potencial antioxidante da semente justifica quando levamos em consideração a comparação do fruto como um todo. O resultado encontrado na semente foi inferior ao encontrado na literatura, ficou abaixo em comparação aos resultados relatados a outros estudos onde a polpa e casca apresentam maior potencial devido a suas particularidades.

A espécie que mais apresentou potencial antioxidante pela técnica DPPH foi a espécie da pitaiá branca (*Hylocereus undatus*), mesmo tendo uma diferença muito próxima em relação as outras espécies. Em contrapartida a amostra de semente da pitaiá amarela (*Hylocereus megalanthus*) apresentou uma capacidade antioxidante maior quando avaliada pelo método ABTS, valor este também muito próximo ao obtido para as outras espécies.

Para compostos fenólicos e flavonoides os valores encontrados foram mais baixos quando comparados a outras porções do fruto como casca e polpa, este fato é correlacionado a pigmentação dos frutos tanto em tonalidade quanto em intensidade, devido a casca e polpa possuírem uma maior tonalidade, também apresentam um valor maior para tais técnicas quando comparamos com a semente estudada no presente trabalho.

Mesmo com poucos dados para comparação na literatura, é notável que os resultados obtidos estão de acordo, levando em consideração que quando se trata de frutos, os resultados podem variar conforme há variação no cultivo do mesmo, clima, região de plantio, tempo de maturação, época de colheita, entre outros.

REFERÊNCIAS

- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. **Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism.** Nutrition. New York: v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- BASTOS, C. D.; PIO, R.; SCARPARE.; FILHO, J. A.; LIBARDI, M. N.; ALMEIDA, L. F. P.; GALUCHI, T. P. D. *et al.* Propagação da pitaya vermelha por estaquia. **Ciênc. Agrotecnol.** n.30, p.9, 2006.
- BASTOS, Débora Costa et al . **Propagação da Pitaya 'vermelha' por estaquia.** Ciênc. agrotec., Lavras 2006.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. Introdução à química de alimentos. **São Paulo : Varela**, v. 2 1989.
- BOEING H, Bechthold A, Bub A, Ellinger S, Haller D, Kroke A. **Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases.** European Journal of Nutrition. 2012.
- BOROSKI M., Visentaniner J., Cottica S., Morais D., **Antioxidantes princípios e métodos analíticos.**1 ed., Curitiba, Appris., 2015.
- BRAND W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** Food Science and Technology. 1995.
- BRASIL. **Ministério da Saúde.** Plano director. Brasília, 2005.
- CHOI, C. W.; KIM, S. C.; HWANG, S. S.; CHOI, B. K.; AHN, H. J.; LEE, M. Y.; PARK, S. H.; KIM, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, v. 163, p. 1161-1168, 2002.
- CHOO, Wee Sim; YONG, Wee Khing. **Antioxidant properties of two species of Hylocereus fruits.** Pelagia Research Library, [S.l.], 11 out. 2011. 2, p. 418- 425
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Representação econômica do rural Brasil.** Disponível em: <<http://www.cna.org.br/RuralBrasil/BrasilEconomico.htm>>. Acesso em: junho. 2021.

DAUCHET L, Amouyel P, Hercberg S, Dallongeville J. **Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies**. Journal of Nutrition. 2006.

DERAL, Departamento de Economia Rural. **Divisão de Conjuntura Agropecuária. Prognóstico FRUTICULTURA** – janeiro de 2020.

DEVASAGAYA, T. P.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, p. 794-804, 2004.

DORNAS, W. C. A. et al. **Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo**. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p.241-249, 2007. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/235/230>. Acesso em: 23 junho 2021

EDWARD, A. F. Distinctive Features of Cacti. In: ANDERSON, Edward F.; BARTHLOTT, Wilhelm; BROWN, Roger. **The Cactus Family**. 1. ed. Portland, Oregon 97204, U.S.A.: Timber Press, Inc., 2001. cap. 1, p. 15-39. v. 1.

FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura). Produção e Proteção vegetal, 1995. **Sebrae/PB**. v.132, p. 72-78, 2001.

FETTER, Mariana da R.; CORBELINI, Diandra D.; VIZZOTTO, Márcia; GONZALEZ, Tatiane N. **Compostos bioativos e atividade antioxidante de Pitanga (Eugenia uniflora L.) em diferentes estágios de maturação**. 18. Empos Amostra científica. 2009. Pelotas, Rio Grande do Sul.

HARTLEY L, Igbinedion E, Holmes J, Flowers N, Thorogood M, Clarke A et al. **Increased consumption of fruit and vegetables for the primary prevention of cardiovascular diseases**. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2013.

HUANG D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal Agric Food Res** 53, p. 1841-1856. 2005

JUNQUEIRA KP, JUNQUEIRA NTV, RAMOS JD, PEREIRA AV. 2002. **Informações preliminares sobre uma pitaya (Selenicereus setaceus Rizz) nativa do Cerrado**. Planaltina: EMBRAPA, 18p. (Documentos, 62).

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.37, p.153-161, 2002.

LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. **Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study.** Food Chemistry, v. 103, n. 3, p. 1003-1008, 2007.

LUO, H. **Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) peel.** Chemistry Central Journal, 2014.

MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S; LIMA, J. L. F. C. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n.1, p. 1-19, 2008.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakrin J Sci Technol** 26: p. 211-216, 2004

NORA, Cleice D. **Caracterização, atividade antioxidante “in vivo” e efeito do processamento na estabilidade de compostos bioativos de araçá vermelho e guabiju.** 2012. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

NURUH, S.R., ASMAH R., **Variability in nutritional composition and phytochemical properties of red pitaya (Hylocereus polyrhizus) from Malaysia and Australia.** Selangor, Malaysia. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Potassium intake for adults and children.** Guias de recomendações. 2012.

PÉREZ, J. A. M.; AGUILAR, T. A. F. Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico. MORALES-GONZALEZ, J. A. **Oxidative stress and chronic degenerative diseases – A role for antioxidants.** Croatia: in Tech, 2013.

PEREZ J.J. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP).** Comunicado técnico 125 EMBRAPA, 2006

PEREZ J.J., VANESSA NEVEU, FEMKE VOS, AND AUGUSTIN SCALBERT, **Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database.** J. Agric. Food Chem. 2010.

RE, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.26, p.1231–1237, 1999.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico on line**. ISSN 1679-6535., Fortaleza – CE, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS.+ . **Comunicado Técnico 128. Embrapa**, Fortaleza, 2007.

SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, p. 121-137, 2002.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant Activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SINGLETON V. L. and JOSEPH A. ROSSI, JR. **COLORIMETRY OF TOTAL PHENOLICS WITH PHOSPHOMOLYBDIC-PHOSPHOTUNGSTIC ACID REAGENTS. PHENOLICS DETERMINATION**, 1965.

SUH, D. H. **Metabolite Profiling of Red and White Pitayas (*Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus*) for Comparing Betalain Biosynthesis and Antioxidant Activity.** Journal of agricultural and food chemistry, 2014.

SURH YJ. **Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals.** Nature Reviews Cancer. 2003.

TAGANAS W.R., et al., **TOTAL FLAVONOIDS, TOTAL PHENOLICS AND VITAMIN C: INDICATORS OF THE ANTIOXIDANT POTENTIALS OF**

SELECTED FRUIT PEELS. Proceedings of 7th IASTEM International Conference, Manila, Philippines, 13th December 2015

WICHIENCHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry* v. 120, n.3, p. 850-857, 2010.

WHO. **Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country, 2000–2012.** Geneva, World Health Organization, Geneva, 2014.