



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CAMPUS DE SOBRAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**MÔNICA SILVA DE BRITO**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICO DAS PARTES  
DO FRUTO DE *CEREUS JAMACARU* DC, CACTACEAE.**

**SOBRAL – CE**

**2015**

MÔNICA SILVA DE BRITO

Dissertação submetida à Coordenação de Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos

**SOBRAL- CE**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca do Curso de Medicina – *Campus* de Sobral

- 
- B876a Brito, Mônica Silva de.  
Avaliação do potencial antioxidante e citotóxico das partes do fruto de *Cereus Jamacaru* DC,  
Cactaceae. / Mônica Silva de Brito. – 2015.  
76 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Curso de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2015.  
Área de Concentração: Biotecnologia.  
Orientação: Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos.
1. Antioxidantes. 2. *Cactaceae*. 3. Citotoxicidade. I. Título.

---

CDD 660.6

MÔNICA SILVA DE BRITO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICO DAS PARTES DO  
FRUTO DE *CEREUS JAMACARU* DC, CACTACEAE.

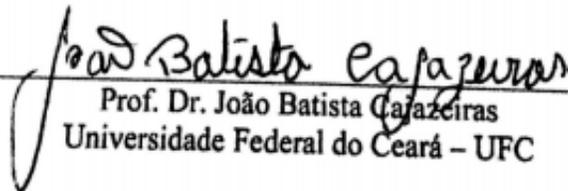
Dissertação submetida à Coordenação do  
Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, da  
Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial para a obtenção do grau de mestre em  
Biotecnologia.

Aprovada em 23/03/2015

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ricardo Pires dos Santos (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. João Batista Cajazeiras  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Prof. Emmanuel Silva Marinho  
Universidade Estadual do Ceará- UECE

Dedico este trabalho aos meus pais Maria e Raimundo, aos meus irmãos Verônica e Jonas, e a meu Noivo Auricelio, em agradecimento pela imensa força e apoio durante o período desse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua providência sempre presente na minha vida, em especial no desenvolvimento desse trabalho, por me fazer observar a riqueza presente natureza com o olhar da ciência.

Aos meus queridos pais, que sempre me apoiaram e incentivaram, durante a trajetória da minha vida estudantil.

A meu irmão Jonas, pelo incentivo nos diversos momentos da minha vida acadêmica.

A minha querida irmã verônica que sempre participou de todos os meus projetos de vida, em especial desse trabalho, a quem devo grande parte dessa realização, devido ao apoio e ajuda em todos os âmbitos do trabalho.

Ao meu Noivo Auricelio, por toda unidade, companheirismo e disponibilidade para ajudar sempre que necessário;

A professora Betânia Andrade, que acompanhou minha formação acadêmica, um exemplo de pesquisadora de pessoa e de amiga. Obrigada pela disponibilização do laboratório também pelas sugestões que contribuíram imensamente para a conclusão deste trabalho.

Agradeço a família Focolares por toda sua unidade, em especial meu amigo Edcarlos;

Agradeço também aos meus queridos amigos Wagner, Leidy, Joice, Nelia e Daniel pelo carinho de sempre e pela amizade e a minha amiga Nágila, pois, sempre está disponível para ajudar.

Ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, *campus* de Sobral representado pelos docentes e funcionários;

Ao Prof.Dr. Ricardo Pires dos Santos, meu orientador, obrigada pela paciência, pelas sugestões e ensinamentos que possibilitaram a realização desse trabalho, e que muito contribuíram para minha formação.

A aluna de mestrado Louise e a professora Alice que possibilitaram a realização do teste de citotoxicidade dos extratos.

Ao laboratório de química orgânica da Universidade vale do Acaraú-UVA na pessoa do Prof. Dr. Elcio, pela disponibilização do rotoevaporador sempre que necessário;

Enfim a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho, sintam-se sinceramente agradecidos por mim.

Nada do que é feito por amor é pequeno.

Chiara Lubich.

## RESUMO

As cactáceas são plantas bastante resistentes a períodos de seca, entre elas está incluído o *Cereus jamacaru*, conhecido como mandacaru, que é um cacto colunar comum no Brasil, produz um fruto comestível, vermelho, carnoso, com polpa branca e sementes pequenas. Os frutos além de fornecerem nutrientes essenciais, também produzem princípios ativos com propriedades biológicas, como a atividade antioxidante. Desta forma o principal objetivo do trabalho foi avaliar o potencial antioxidante, a citotoxicidade e verificar a composição química das partes do fruto de *Cereus jamacaru* DC, visando incentivar o consumo e o aproveitamento industrial do fruto. Foram separadas as partes dos frutos (casca, polpa e semente), e feitas extrações com etanol 70% e 95% de cada parte, resultando em seis amostras: casca (CM70%, CM95%), polpa (PM70%, PM95%) e semente (SM70%, SM95%). A atividade antioxidante foi avaliada através do método de seqüestro de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). foram testadas as seis amostras nas concentrações de 100 a 2000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Os controles positivos foram o eugenol e o  $\beta$ -caroteno. A partir dos resultados foi calculada a porcentagem da atividade antioxidante (AA%) e a Concentração Eficiente ( $\text{EC}_{50}$ ). O perfil cinético foi determinado pela redução do DPPH em função do tempo. A caracterização química das amostras foi realizada por espectroscopia no infravermelho. A citotoxicidade foi determinada pelo método MTT sobre macrófagos. Com os dados obtidos através do infravermelho, verificou-se que as seis amostras apresentam diferentes compostos potencialmente antioxidantes. As amostras da casca apresentaram AA% superiores ao  $\beta$ -caroteno em todas as concentrações testadas. A CM70% foi mais eficiente que a CM95%, com AA% aproximada ao eugenol nas concentrações de 1000 e 2000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . A amostra PM95% demonstrou maior porcentagem antioxidante que a PM70%, sendo comparável ao  $\beta$ -caroteno nas concentrações de 100-300  $\mu\text{g}/\text{ml}$  e mediana nas concentrações superiores. Já a SM70% e a SM95% exibiram as mais altas AA% entre as amostras, sendo similares ou superiores ao eugenol a partir da concentração de 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . As amostras exibiram três perfis de cinética: Rápida para as amostras SM70%, SM95% e CM70%, Intermediária para a CM95% e lenta para a PM70% e PM95%. Os menores valores de  $\text{EC}_{50}$  foram observados nas amostras de semente e casca: SM70% (0,233mg/mL), SM95% (0,217mg/mL); CM70% (0,56mg/mL), CM95% (0,94 mg/mL). Sendo que os valores de  $\text{EC}_{50}$  mais elevados foram observados nas amostras de polpa: PM70% (10,95 mg/mL) e PM95% (8,73mg/mL). As amostras de casca e semente destacaram-se, apresentando valores de  $\text{EC}_{50}$  menores do que várias frutas e sementes já conhecidas por sua ação antioxidante. Apenas a amostra CM70% mostrou níveis de citotoxicidade nas três maiores concentrações, as demais amostras não apresentaram citotoxicidade, e nas concentrações mais elevadas aumentaram a viabilidade celular. Desta forma é possível concluir que o fruto possui compostos com capacidade antioxidante potente, podendo vir a ser utilizado pela indústria, para o consumo *in natura*, na forma de suco, polpa, ou para extração de compostos antioxidantes podendo ser posteriormente utilizados como aditivos em alimentos.

**Palavras chave:** *Cereus jamacaru* DC. Fruto. Antioxidante. Citotoxicidade.

## ABSTRACT

Cacti are resistant plants during dry periods, among which is included the *Cereus jamacaru*, known as mandacaru. The mandacaru is a common columnar cactus in Brazil that produces an edible, red, fleshy fruit, with white flesh and small seeds. The fruits provide essential nutrients and they also produce active ingredients with biological properties such as antioxidant activity. The main objective of the study was to evaluate the antioxidant potential, cytotoxicity and verify the chemical composition of parts of the fruit of *Cereus jamacaru* DC, aimed at encouraging the consumption and the industrial use of the fruit. Parts of the fruit were separated (peel, pulp and seeds) and made extraction with ethanol 70% and 95%, resulting in six samples: peel (CM70% and CM95%) pulp (PM70% and PM95%) and seeds (SM70% and SM95%). The antioxidant activity was evaluated through sequestration method free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The six samples were tested in concentrations of 100 to 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The positive controls were eugenol and  $\beta$ -carotene. We calculated the percentage of antioxidant activity (AA%) and the Efficient Concentration (EC50). The kinetic profile was determined by the reduction of DPPH with respect to time. The chemical characterization of the samples was performed by infrared spectroscopy (FTIR). The cytotoxicity was determined by MTT assay on macrophages. With the data obtained by infrared, it was found that the six samples show different antioxidant compounds. The peel samples showed AA% values higher than  $\beta$ -carotene in all tested concentrations. Already the SM70% and SM95% exhibited the highest AA%, with antioxidant activity similar to eugenol in concentrations above of 400  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The samples exhibited three kinetic profiles: fast for SM70%, SM95%, and CM70%; intermediate for the CM95% and slow for PM70% and PM95. The lower EC50 values were observed in seeds and peel samples: SM70% (0,233  $\text{mg mL}^{-1}$ ) SM95% (0,217  $\text{mg mL}^{-1}$ ); CM70% (0,56  $\text{mg mL}^{-1}$ ), and CM95% (0.94  $\text{mg mL}^{-1}$ ). The highest EC50 values were observed in pulp samples: PM70% (10.95  $\text{mg mL}^{-1}$ ) and PM95% (8,73  $\text{mg mL}^{-1}$ ). Samples of skin and seeds had lower EC50 values than various fruits and seeds known for their antioxidant activity. Only the CM70% showed levels of cytotoxicity in the three highest concentrations, the other samples showed no cytotoxicity at higher concentrations and increased cell viability. Thus we conclude that the mandacaru fruit has compounds with potent antioxidant capacity and could be used by the industry for fresh consumption in the form of juice, pulp, or extraction of antioxidant compounds that can later be used as additives in food.

**Keywords:** *Cereus jamacaru* DC, fruit, antioxidant activity, cytotoxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição das cactáceas no mundo.....	15
Figura 2	Diversidade de cactáceas no Brasil (laurens Geffert).....	16
Figura 3	Plantação de <i>Opuntia ficus-indica</i> A) Plantação de <i>Opuntia ficus-indica</i> em Santa Margherita Belice, Itália. B) Frutas em cladódios. C) Frutos prontos para o transporte.....	17
Figura 4	Espécies de cactos cultivados em Israel. A e B) Plantação de <i>Cereus peruvianus</i> no deserto Negev, oeste israelense. C) Caixa de Exportação com <i>C.peruvianus</i> para ser enviada de Israel para a Europa. D) Frutos de <i>H. undatus</i> produzidos em Israel e prontos para exportação para Europa.....	17
Figura 5	A) Manejo de pitaia por produtores na Chapada do Apodí, Ceará, Brasil. B) pitaia amarela ( <i>Selenicereus megalanthus</i> ). C) pitaia vermelha ( <i>Hylocereus undatus</i> ).....	18
Figura 6	Plantas de <i>Cereus jamacaru</i> , DC, fotografadas em Guaraciaba do Norte-CE.....	19
Figura 7	A) Haste com flor de mandacaru, semi-aberta. B) Flor do mandacaru aberta (flor noturna).....	20
Figura 8	Haste com o fruto de <i>Cereus jamacaru</i> . B) Fruto de <i>Cereus jamacaru</i> .....	20
Figura 9	Mecanismo do ensaio colorimétrico MTT para avaliar a citotoxicidade celular.....	29
Figura 10	Planta onde foram coletados os frutos.....	30
Figura 11	Esquema de obtenção do extratos brutos.....	31
Figura 12	Esquema ilustrativo do teste antioxidante.....	33
Figura 13	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra PM70%.....	34
Figura 14	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra PM95%.....	35
Figura 15	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra CM70%.....	35
Figura 16	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra CM95%.....	35
Figura 17	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra SM70%.....	36
Figura 18	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra SM95%.....	36
Figura 19	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para o controle Eugenol.....	36
Figura 20	Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para o controle $\beta$ -caroteno.....	37
Figura 21	Esquema do teste do perfil cinético antioxidante.....	38
Figura 22	Ensaio de redução do MTT.....	40
Figura 23	Espectro de FTIR da casca do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 70%.....	46
Figura 24	Espectro de FTIR da casca do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 95%.....	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 25	Espectro de FTIR da polpa do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 70%.....	46
Figura 26	Espectro de FTIR da polpa do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 95%.....	47
Figura 27	Espectro de FTIR da semente do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 70%.....	47
Figura 28	Espectro de FTIR da polpa do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídas com etanol a 95%.....	47
Figura 29	Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da casca do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> (CM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparado aos padrões de $\beta$ -caroteno e eugenol.....	48
Figura 30	Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da polpa do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> (PM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparado ao padrão $\beta$ -caroteno.....	50
Figura 31	Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da semente do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> (SM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparado aos padrões de $\beta$ -caroteno e eugenol... ..	51
Figura 32	Comportamento cinético de (1000 $\mu$ g/ml) dos extratos de casca (CM), polpa (PM) e semente (SM) do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> extraídos com etanol a 70% e 95% v/v, frente ao DPPH.....	53
Figura 33	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de polpa extraídas com etanol a 70% (PM70%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	58
Figura 34	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de polpa extraídas com etanol a 95% (PM95%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	58
Figura 35	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de casca extraída com etanol a 70% (CM70%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	59
Figura 36	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de casca extraída com etanol a 95% (CM95%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	60
Figura 37	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de semente extraída com etanol a 70% (SM70%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	60
Figura 38	Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de semente extraída com etanol a 95% (SM95%), nas concentrações de 31,25-2000 $\mu$ g/mL.....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Bandas de absorção das amostras das partes do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> no infravermelho- (FTIR).....	41
Tabela 2	Intervalos das concentrações utilizadas, equações da reta e coeficientes de correlação linear ( $r^2$ ), obtidos pelos extratos de casca, polpa e semente extraídos com etanol a 70% e 95%, na avaliação antioxidante pelo método de redução do DPPH.....	55
Tabela 3	Capacidade antioxidante ( $EC_{50}$ em mg/mL) dos extratos de casca polpa e semente de <i>Cereus jamacaru</i> DC, extraídos com etanol a 70% e a 95%, utilizando o radical livre DPPH.....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA%	Porcentagem de atividade antioxidante
ANOVA	Análise de Variância
ATR	Técnica de reflectância atenuada
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butil hidroxitolueno
CM	Casca do fruto do mandacaru
CM 70%	Extração casca do fruto do mandacaru com etanol 70%
CM 95%	Extração casca do fruto do mandacaru com etanol 95%
DMSO	Dimetil Sulfóxido
DP	Desvio Padrão
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DMEM	Meio Eagle Modificado por Dulbecco
%DPPH REM	Porcentagem remanescente de DPPH
EC <sub>50</sub>	Concentração Mínima Efetiva de 50%
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAO	Food and Agriculture Organization
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
GP	Galato de propila
IV	espectroscopia na região do infravermelho
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
MTT	brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NADH	nicotinamida adenina dinucleotídeo)
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NO	Óxido nítrico
NBT	Nitroblue

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PM	Polpa do fruto do mandacaru
PM 70%,	Extração polpa do fruto do mandacaru, com etanol 70%
PM 95%	Extração polpa do fruto do mandacaru com etanol 95%
RL	Radical livre
$r^2$	Coefficiente de correlação linear
Rpm	Rotação por minuto
SM	Semente do fruto do mandacaru
SM 70%	Extração semente do fruto do mandacaru com etanol 70%
SM95%	Extração semente do fruto do mandacaru com etanol 95%
SDS	Dodecilsulfato de sódio
TBHQ	terc butil hidroquinona
UV	Radiação ultra-violeta
UVA	Universidade Estadual Vale do Acaraú

## SUMÁRIO

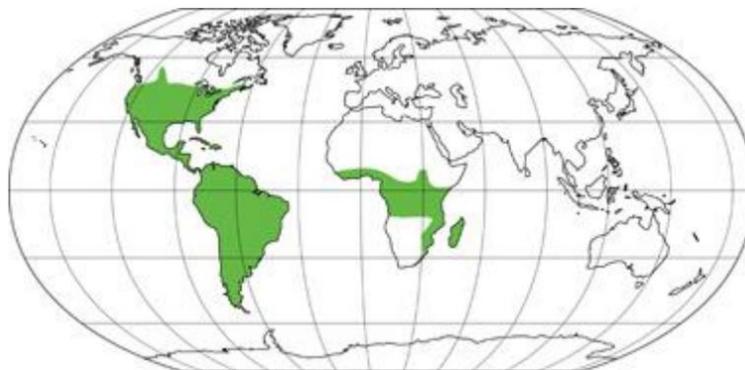
1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Cactaceae.....	15
1.2 <i>Cereus jamacaru</i> .....	18
1.3 Fruticultura, polpas, frutos e seus nutrientes.....	21
1.4 Antioxidantes.....	23
1.5 Aditivos em alimentos - antioxidantes.....	26
1.6 Infravermelho.....	28
1.7 Teste de citotoxicidade - Método de MTT.....	28
2 OBJETIVOS.....	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivos Específicos.....	30
3 METODOLOGIA.....	30
3.1 Coleta do material vegetal.....	30
3.2 Extração de metabólitos.....	31
3.3 Análise dos extratos por espectroscopia no infravermelho.....	32
3.4 Análise da capacidade antioxidante pelo método DPPH.....	32
3.5 Análise estatística .....	34
3.6 Concentração Efetiva 50% (EC <sub>50</sub> ).....	34
3.7 Perfil cinético das amostras pelo método de DPPH.....	37
3.8 Análise estatística.....	38
3.9 Determinação da citotoxicidade dos extratos do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> D C. pelo teste de redução do MTT sobre macrófagos RAW 264.7 de camundongos.....	39
3.10 Análise estatística.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1 Espectroscopia no infravermelho – ( FTIR).....	41
4.2 Avaliação da atividade antioxidante das partes do fruto de <i>Cereus jamacaru</i> .....	48
4.3 Perfil cinético das amostras.....	53
4.4 Valores de EC <sub>50</sub> (Concentração mínima eficiente).....	55
4.5. Citotoxicidade dos extratos das partes do fruto.....	57
5. CONCLUSÃO.....	63
6. ESPECTATIVAS.....	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Cactaceae

Os representantes da família cactaceae, habitam as regiões mais diversas, desde planícies costeiras a regiões montanhosas com alta altitude, mostrado na (figura 1). O Brasil abriga o terceiro centro de diversidade das cactáceas, logo após o México, o sul dos Estados Unidos e a região dos Andes que inclui a Bolívia, Argentina e o Peru. As regiões mais importantes, em termos de biodiversidade, são o leste do Brasil (Bahia e Minas Gerais) e o Sul do Brasil (Rio Grande do Sul). Já o território que abriga as espécies mais importantes, situa-se na região Nordeste e na maioria do Sudeste, como pode ser observado na figura 2 (MORAIS 2013; ZAPPI *et al.*, 2011).

**Figura 1.** Distribuição das cactáceas no mundo.

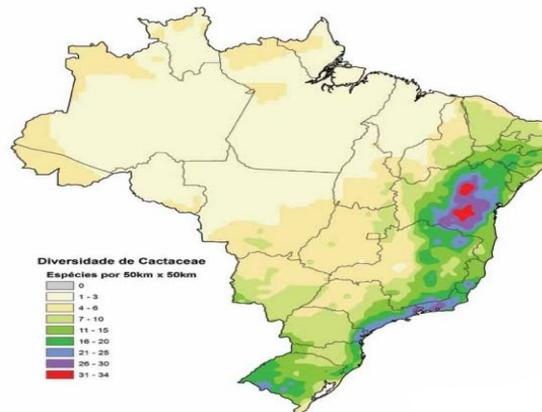


Fonte: MORAIS 2013.

O Brasil é considerado o terceiro maior centro de diversidade de cactáceas, onde cerca de três quartos das suas espécies são endêmicas, com um total de 162 espécies nativas. A família cactaceae está representada desde o litoral até o sertão (LIMA, 2012) (Figura 2). Sendo as espécies classificadas em cinco grupos, de acordo com o seu hábitat: 1) Silvícolas - que habitam florestas pluviais: amazônica e atlântica, com predominância de espécies epífitas; 2) Savanícolas – no cerrado; 3) Campestres – em campos rupestres de Minas Gerais; 4) Litorâneas - no litoral brasileiro; 5) Xerófilas – bioma da caatinga, o qual abrange o maior número de espécies (RIZZINI, 1987 apud ARRUDA; MELO-DE-PINNA; ALVES, 2005).

Os cactos, devido à sua morfologia e metabolismo, representam um grupo de plantas capazes de se desenvolverem em condições de extrema limitação hídrica, constituindo uma cultura estratégica para o futuro da humanidade, uma vez que é crescente a falta de água em muitas regiões do mundo (GOMES, 2014).

**Figura 2.** Diversidade de cactáceas no Brasil (laurens Geffert).



Fonte: ZAPPI *et al.*, 2011.

A família cactaceae é composta por aproximadamente 100 gêneros e 1500 espécies estando dividida em três subfamílias: Opuntioideae, Pereskioideae e a mais numerosa entre elas, a Cactoideae, composta por 91 gêneros. As cactáceas são plantas que possuem caules suculentos, apresentando diversos hábitos, podendo ser árvores, arbustos, trepadeiras, epífitas ou geófitas. As hastes (talos) podem ser colunares, roliços, globulares, tuberculados, em forma de costeletas, asas ou achatados, geralmente segmentados, sem folhas e com espinhos (BARTHLOTT e HUNT, 1993, p. 161-162 apud DAVET, 2005).

Este grupo de plantas não possui folhas desenvolvidas, o caule se apresenta na cor verde, variando muito na sua forma, podendo apresentar-se nas formas esféricas, silíndricas, poligonais, articuladas e ramificadas, etc. Exercem função de caule (resistência) e a principal função das folhas (clorofiliana). As flores são solitárias e vistosas, apresentam-se isoladas ou raramente agrupadas, em geral possuem tamanho grande e podem ser encontradas nas cores branca, amarela e vermelha. O fruto tem formas variadas, podendo ser baciliforme, carnoso, seco, glabro, escamoso, tomentoso, cerdoso ou espinhoso, deiscente ou indeiscente, em geral os frutos são grandes e comumente de cor vermelha, muito procurado pelos pássaros e pelo homem (ROCHA; AGRA 2002; JOLY, 1977; SHULTZ, 1963).

Muitas espécies de cactáceas produzem frutos comestíveis, sendo a *Opuntia* o gênero mais conhecido mundialmente. As cactáceas frutíferas são pertencentes ao subgênero *Platyopuntia* (oriundas do gênero *Opuntia*), também são frutíferas as espécies de outros grupos, como as cactáceas colunares, do gênero *Cereus* e as trepadeiras dos gêneros *Hylocereus* e *Selenicereus*. São muito apreciadas pela população em geral e estudadas visando seu cultivo em plantações comerciais (PILLETE, 2011; NOBEL, 2002; GOMES, 2014).

Na América do Sul, Estados Unidos, África e Bacia do Mediterrâneo, a *Opuntia ficus-indica* é a única espécie cultivada para produção de frutos (Figura 3). Já o *Cereus peruvianus* e *Hylocereus undatus* são cultivados em Israel (Figura 4). O cacto de videira mais cultivado é a pitáia vermelha, *Hylocereus undatus* que possui casca vermelha, polpa branca, sua utilização como uma das principais culturas de frutas exóticas comercializadas tem sua origem no Vietnã (NOBEL, 2002).

No Brasil, existem pequenas áreas para produção de pitáia (cactáceas dos Gêneros *Hylocereus* e *Selenicereus*), situadas principalmente no estado de São Paulo, especificamente na região de Catanduva. Atualmente, a região Sudeste do Brasil é a principal produtora do país, mas existem diversos plantios distribuídos por todo o país, sendo alguns desses na região da Chapada do Apodí, nos municípios de Limoeiro do Norte e Quixeré, no estado do Ceará (Figura 5). O cultivo da pitáia é uma excelente opção para o produtor, devido ao alto preço pago pela fruta; e para o consumidor, devido ao rico valor nutricional da mesma (GOMES, 2014; MENESES, 2013; NUNES *et al.*, 2014).

**Figura 3.** Plantação de *Opuntia ficus-indica* A) Plantação de *Opuntia ficus-indica* em Santa Margherita Belice, Itália. B) Frutas em cladódios. C) Frutos prontos para o transporte.



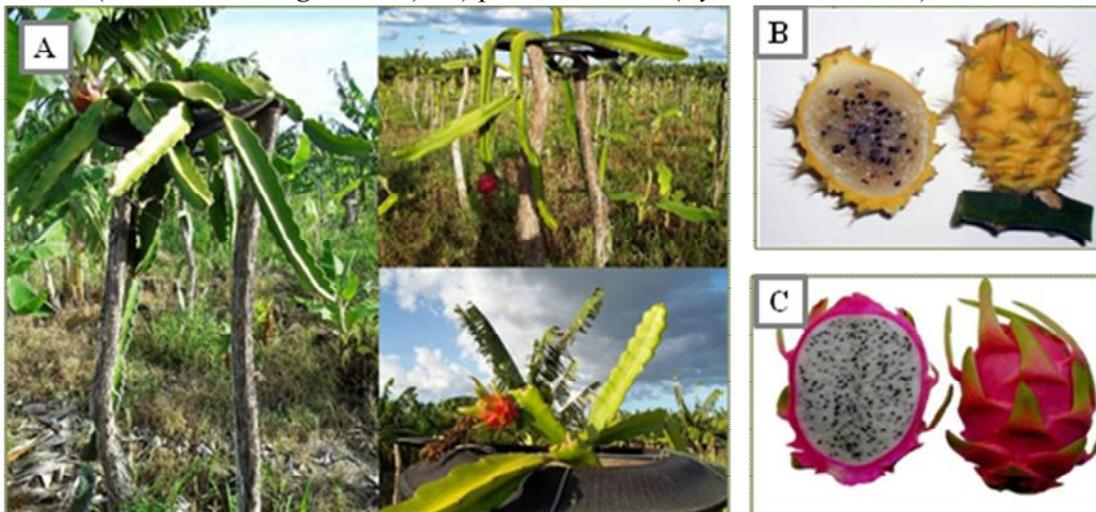
Fonte: NOBEL, 2002; PILETTI, 2011.

**Figura 4.** Espécies de cactos cultivados em Israel. A e B) Plantação de *Cereus peruvianus* no deserto Negev, oeste israelense. C) Caixa de Exportação com *C.peruvianus* para ser enviada de Israel para a Europa. D) Frutos de *H. undatus* produzidos em Israel e prontos para exportação para Europa.



Fonte: MIZRAHI; NERD; SITRIT, 2002; NOBEL, 2002.

**Figura 5.** A) Manejo de pitaia por produtores na Chapada do Apodí, Ceará, Brasil. B) pitaia amarela (*Selenicereus megalanthus*). C) pitaia vermelha (*Hylocereus undatus*).



Fonte: NUNES *et al.*, 2014; MIZRAHI; NERD; SITRIT, 2002.

As cactáceas possuem importância econômica, principalmente pelo valor ornamental e forrageiro. A dominância ou subdominância de espécies de cactáceas na fisionomia vegetal da caatinga nordestina, principalmente dos gêneros *Cereus*, *Opuntia* e *Pilosocereus*, os quais tem sido de grande importância para a alimentação da fauna local (ROCHA; AGRA, 2002).

Hoje se destacam uma série de setores industriais que obtém vantagens com a utilização de produtos provenientes das cactáceas, pois além da indústria de cosméticos, são citadas outras aplicações em indústrias de bebidas, de nutrição animal, indústria farmacêutica, de suplementos alimentícios (fibras e farinhas dos cladódios), indústria produtora de aditivos naturais (gomas e corantes) e indústria do setor energético (produção de biogás). Por todas as suas características e funções, estudos realizados pela FAO (Food and Agriculture Organization) destacaram a importância das cactáceas como uma fonte de renda, emprego e nutrientes a serem explorados tanto em farmacologia quanto na cosmologia, devido principalmente ao conteúdo mucilaginoso presente nas cactáceas (VILLASEÑOR, 2008; DAVET, 2005).

### 1.2 *Cereus jamacaru*

O *Cereus jamacaru* pertence à família cactaceae, está incluído no gênero *Cereus* e na subfamília Cactoideae (ARRUDA; MELO-DE-PINNA; ALVES, 2005). A espécie *Cereus jamacaru* DC., é popularmente conhecida como mandacaru, é a cactácea colunar mais conhecida da vegetação da caatinga, podendo alcançar até 10 metros de altura, é

extremamente rústica e destaca-se por crescer em solos pedregosos e próximo a outras espécies de cactáceas, formando a paisagem típica do semi-árido nordestino, podendo ser facilmente encontrado nos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, entre outros (SILVA; ALVES, 2009; BARBOSA *et al.*, 2009; MESSIAS, 2010) (Figura 6).

**Figura 6.** Plantas de *Cereus jamacaru*, DC, fotografadas em Guaraciaba do Norte-CE.



Fonte: Arquivo do autor.

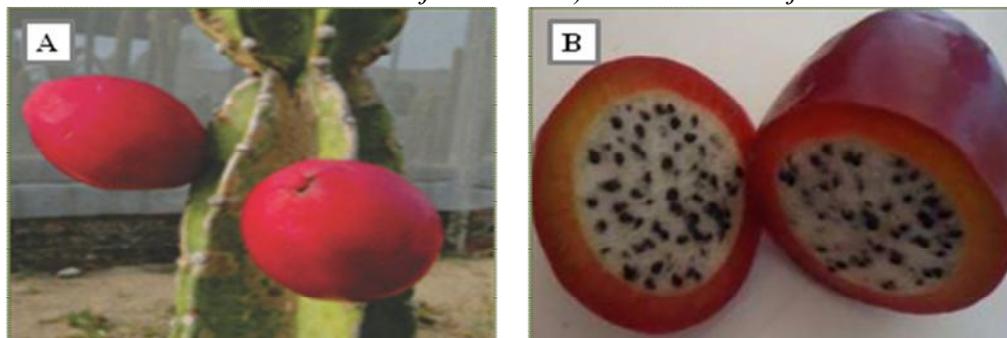
O mandacaru Possui muitos espinhos que chegam a atingir até 20cm de comprimento, os quais constituem uma defesa da planta contra animais em busca de alimento. Seus frutos são do tipo baga, alongados, de cor vermelha com casca carnosa e polpa branca que contem muitas sementes pequenas de coloração preta brilhante. O período de frutificação ocorre todo ano conforme o período de chuvas. As flores são noturnas e bastante visitadas, geralmente por mariposas e morcegos, no período de janeiro a agosto e os frutos entre fevereiro e setembro (BARBOSA *et al.*, 2009; ROCHA; AGRA, 2002) (Figura 6, 7 e 8).

**Figura 7.** A) Haste com flor de mandacaru, semi-aberta. B) Flor do mandacaru aberta (flor noturna)



Fonte: Arquivo do autor; <http://jardimdecateia.com.br>.

**Figura 8.** Haste com o fruto de *Cereus jamacaru*. B) Fruto de *Cereus jamacaru*.



Fonte: CORREIA *et al.*, 2012; BRITO, 2013.

É importante destacar que o mandacaru possui um valor inestimável para a alimentação dos animais, onde suas hastes geralmente são utilizadas como forragem, desta forma o plantio do mandacaru vem representando uma opção estratégica, de água e de forragem para os animais, principalmente em períodos de secas prolongadas na região do semi-árido nordestino. A polpa do fruto também é bastante apreciada por ser doce e possuir nutrientes, além disso, algumas partes do mandacaru são utilizadas diretamente pelos seres humanos, para o tratamento de algumas doenças, de acordo com o conhecimento popular repassado de pessoa para pessoa ao longo do tempo (FREIRE, 2011; SILVA *et al.*, 2013; ANDRADE; MARQUES; ZAPPI, 2006; MESIAS, 2010; GUEDES *et al.*, 2009).

Os frutos do mandacaru podem servir não só de alimento para os animais, mas também é uma agradável fonte de alimento para o ser humano, embora ainda não sejam explorados intensamente. Poucos são os estudos encontrados na literatura sobre os frutos desta planta, que apesar de estarem disponíveis em grandes quantidades de fevereiro a setembro, ainda não são explorados comercialmente, ocasionando desperdício, e quando utilizados, apenas uma pequena porção é aproveitada para a elaboração de doces e geléias (BAHIA *et al.*, 2010; SILVA; ALVES, 2009).

Em estudo realizado por (SILVA; ALVES, 2009) indica que o frutos do mandacaru apresentam valores médios de pH adequados para o seu processamento, armazenamento e conservação. A determinação da composição nutricional realizada, também apontou o fruto do mandacaru como uma alternativa alimentar saudável.

A polpa do fruto do mandacaru apresenta carboidratos, como às fibras solúveis e insolúveis. Desta forma o consumo deste fruto pode trazer vários benefícios à saúde, atuando no equilíbrio da absorção de gorduras, açúcar e colesterol. Os açúcares presentes no fruto são representados na sua maioria por açúcares redutores, carboidratos esses, que conferem ao fruto um grande potencial para utilização em processos biotecnológicos envolvendo a fermentação alcoólica. A partir de estudos é perceptível que a polpa do mandacaru apresenta características adequadas para o consumo *in natura*, e também para o seu processamento, indicando ótimo potencial para a elaboração de novos produtos. Destaca-se também na polpa a concentração de pectina geleificante, cuja presença pode favorecer a elaboração de doces e geléias (SILVA *et al.*, 2012; BAHIA *et al.*, 2010).

As sementes de mandacaru também são fontes de compostos bioativos, além de serem ricos em ácidos graxos insaturados principalmente o oléico e linoléico (MAYWORM; SALATINO, 1996).

Quantidades de nutrientes e polifenólicos responsáveis pela capacidade antioxidante foram encontrados em espécies do gênero *Cereus*, como o *C. hildmannianus*, podendo ser comparadas a outras frutas tropicais, inclusive aos frutos consumidos e comercializados mundialmente de *Opuntia*, que já são bastante utilizados em sucos. Hoje a maioria dos estudos refere-se ao gênero *Opuntia*, mas este por apresentar características muito semelhantes ao *Cereus* podem então serem comparados, desta forma os frutos do *Cereus jamacaru* também pode ser considerada uma alternativa a ser estudada, visando o incentivo do cultivo, comercialização e utilização dos seus frutos, para sucos, geléias dentre outras possibilidades. Hoje no Brasil, as variedades de frutos de cactáceas disponíveis comercialmente são poucas, podendo ser citado o *H. undatus*, que apresenta frutos muito similares ao do mandacaru (NUNES *et al.*, 2014; PILETTI, 2011; NOBEL, 2002).

### **1.3 Fruticultura, polpas, frutos e seus nutrientes.**

A fruticultura no Brasil vem aumentando consideravelmente, sendo favorecida pelo clima, pela disponibilidade de ambiente e pelas condições de plantio adequadas. A crescente produção é uma resposta ao aumento da procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis, desta forma tem aumentado bastante a produção e conseqüentemente o consumo de

sucos e polpas de frutas. Tem-se destacado os sucos de frutas tropicais, que conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil um dos principais produtores (LIMA, 2012; FONSÊCA, 2012; KUSKOSKI *et al.*, 2006). A importância de usufruir ao máximo da diversidade das frutas no Brasil, faz com que, um maior número de frutas silvestres e nativas sejam avaliadas tanto nutricionalmente como quimicamente (ALMEIDA *et al.*; 2009).

Atualmente com o aumento do consumo de frutas exóticas, o seu valor comercial tem aumentado, surgindo assim um maior interesse por parte dos fruticultores no plantio e cultivo deste tipo de fruta. No sudeste do Brasil, por exemplo, ocorre um crescente interesse no cultivo de cactáceas frutíferas (Bastos *et al.*, 2006). As frutas exóticas são todas aquelas que apresentam um sabor ou características diferenciadas que as distinguem das demais, apresentam diferenças também no formato, na cor e na arquitetura da planta, além destas características peculiares, também são consideradas frutas exóticas aquelas comercializadas em menor volume. Podendo ser destacado algumas destas frutas já comercializadas atualmente no Brasil: Lichia, Romã, Rambutã, pitaya, amora, framboesa, carambola e umbu entre outras (WATANABE; OLIVEIRA, 2014).

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutos *in natura*, sendo que na última década, a produção brasileira de frutas foi ampliada em 22,49%. Porém, devido às frutas serem bastante perecíveis, grande parte delas sofre deterioração em poucos dias, prejudicando a sua comercialização, especialmente para longas distâncias. (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2013; SANTOS; COELHO; CARREIRO, 2008).

Devido a problemas como os relatados, a utilização da polpa de frutas congeladas está em expansão nas indústrias alimentícias, tendo em vista, que são um produto de fácil manuseio e armazenamento, apresentando uma vida de prateleira elevada, vem se destacando como uma importante alternativa para o aproveitamento dos frutos durante a safra, permitindo a estocagem das polpas fora da época da produção dos frutos. As indústrias de polpa de frutas, além de agregarem valor econômico às frutas contribuem para o aproveitamento do seu excedente diminuindo assim as perdas pós-colheita (FONSÊCA, 2012; SANTOS; COELHO; CARREIRO, 2008; KUSKOSKI *et al.*, 2006).

O Brasil possui um território bastante extenso e por isto, nem sempre é possível o acesso da população as diversas variedades de frutas produzidas no país, no entanto as polpas de frutas congeladas tem sido uma alternativa para suprir essa carência (SARTORI; COSTA; RIBEIRO, 2014)

O valor nutritivo das frutas é um dos aspectos que conduzem ao interesse crescente pelo consumo de frutos, sucos e polpas. Estes alimentos têm sido altamente recomendados,

por serem excelente fontes de carboidratos, proteínas, fibras dietéticas, minerais, vitaminas, carotenóides, substâncias fenólicas, dentre outras. Trabalhos recentes têm apontado esses alimentos como fontes de compostos com ação antioxidante, sendo citado, por exemplo, os compostos fenólicos que agem como sequestradores de radicais livres, os quais contribuem para manter o equilíbrio entre a produção e a eliminação de espécies reativas de oxigênio e outros compostos relacionados, inibindo e reduzindo as lesões ou processos degenerativos, causados pelos excessos destes radicais presentes nas células, podendo até conduzirem ao aparecimento de doenças crônicas (FONSECA, 2010; VIEIRA *et al.*, 2011).

Em todas as partes do vegetal podem ser encontradas substâncias ativas dos mais variados tipos de estruturas moleculares, sintetizadas a partir do metabolismo primário, denominadas de metabólitos secundários. Essas substâncias participam diretamente das interações bioquímicas de convivência e comunicação entre os vegetais e os vários organismos vivos, presentes no ambiente (DELMONDES, *et al.*, 2013). As frutas e vegetais destacam-se por serem a principal fonte de antioxidantes naturais, estando o seu consumo associado a baixos riscos de doenças cardiovasculares, diabetes, deficiência do sistema imunológico, entre outros. Os compostos presentes nas frutas, de acordo com as características de cada um e quantidade estabelecida, são essenciais para a manutenção do organismo humano (HARBONE; WILLIAMS, 2000; FONSECA, 2010).

#### **1.4 Antioxidantes**

Os radicais livres (RL) são partículas (atômicas ou moleculares) que possuem um elétron desemparelhado no orbital externo, tornando-as muito instáveis e com grande capacidade para combinar-se com diversas moléculas integrantes da estrutura celular, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios. São exemplos de radicais livres o ânion superóxido, o radical hidroxila e os metais de transição, sendo o ferro e o cobre os mais abundantes no organismo. Os radicais livres que contêm oxigênio conhecido como espécies reativas de oxigênio (ROS), são os radicais livres biologicamente mais importantes. Tanto as espécies reativas de oxigênio quanto outros radicais livres, podem ser produzidos por fontes endógenas ou exógenas. A capacidade desses radicais em combinarem-se com estruturas celulares está associada ao aparecimento de vários processos patológicos, tais como o câncer, arteriosclerose, o mal de Alzheimer, entre outras desordens, além do processo normal do envelhecimento (DOSSIÊ ANTIOXIDANTES, 2009; SALVADOR; HENRIQUES, 2004; GASPARRI, 2005).

Os antioxidantes são substâncias que modulam ou inibem a oxidação de um substrato, são utilizadas no combate aos radicais livres, contribuindo assim para a manutenção do equilíbrio no organismo, impedindo a oxidação e inativação de macromoléculas evitando assim possíveis patologias. Os antioxidantes protegem o organismo ao inibir reações ligadas à ação de EROs e com isso impedem a perda da integridade celular (SOUZA, 2013; DELMONDES, *et al.*, 2013)

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles. Alguns antioxidantes primários quando usados em combinação podem atuar sinergicamente. Os removedores de oxigênio, são compostos que capturam o oxigênio presente no meio, através de reações químicas estáveis, podendo ser citados como exemplos desse grupo, o ácido ascórbico e seus isômeros, sendo que o ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários. Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como a glucose oxidase, superóxido desmutase e catalases. Os agentes quelantes são os antioxidantes que complexam íons metálicos, principalmente o cobre e o ferro, além de catalisar a oxidação lipídica. Os antioxidantes mistos incluem compostos de plantas e animais, são geralmente constituídos por uma mistura de substâncias antioxidantes, estes tem sido amplamente estudados como antioxidantes em alimentos (DOSSIÊ ANTIOXIDANTES, 2009; PERREIRA 2008).

As substâncias antioxidantes podem ter origem sintética ou natural. Os sintéticos são em geral estruturas fenólicas, essas substâncias são utilizadas na indústria alimentícia, destacando-se o BHT, BHA, GP e TBHQ, já os naturais são extraídos de plantas e vegetais, em particular das frutas, onde destacam-se a presença dos flavonóides, tocoferóis,  $\beta$ -caroteno, vitaminas C, E, carotenóides e os compostos fenólicos extraídos de plantas como o alecrim e a sálvia. A quantidade e o perfil destes fitoquímicos variam em função do tipo, variedade e grau de maturação da fruta bem como das condições climáticas e do cultivo (SOUZA *et al.*, 2007; RAMALHO; JORGE, 2006; MENDONÇA, 2009; ALMEIDA, 2013; LEONG; SHUI, 2002; BERNARDES, PESSANHA, OLIVEIRA, 2010).

É relatado que grande parte do efeito antioxidante deve-se à presença dos flavonóides e dos ácidos fenólicos isolados de frutos e bagas, embora o ácido ascórbico, carotenóides e

tocoferóis também contribuem para a atividade antioxidante. Os flavonóides podem ser encontrados em diversas formas estruturais, tanto nas frutas quanto nos vegetais, sua estrutura química é formada por dois anéis benzênicos incluindo um anel heterocíclico de seis membros contendo um átomo de oxigênio (compostos tricíclicos). Os compostos fenólicos e os flavonóides encontram-se acumulados nos vacúolos dos tecidos vegetais das plantas e das frutas, como metabólitos intermediários, ficando separados das enzimas oxidativas naturalmente presentes nos vegetais (TASCA, 2007).

Para avaliar a capacidade antioxidante de um vegetal, faz-se necessário, obter o máximo de extração dos compostos bioativos, os quais apresentam polaridade diferenciada, justificando a inexistência de um procedimento de extração universal, desta forma faz-se necessário a existência de diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes nos vegetais, dentre estes, podem ser citados os métodos tradicionais de extração, os quais utilizam solventes orgânicos como a água, etanol, éter e metanol. Para a identificação e isolamento destes compostos bioativos das fontes naturais é necessário a realização da extração com solventes de polaridades diferentes. Atualmente a combinação de etanol e água tem sido preferida por apresentar baixa toxicidade e elevado rendimento de extração. As pesquisas enfocam essas formas de extrações com o objetivo de comparar seus resultados e encontrar a melhor alternativa para sua aplicação (ANDREO; JORGE, 2006; AGUSTO *et al.*, 2015).

Portanto, não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de uma classe específica de antioxidantes naturais, devido a diversos fatores, como a natureza química de cada um dos compostos que podem variar do simples ao altamente polarizado, pois há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais, como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos, entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. É relatado que o etanol e a água são os solventes mais empregados para a extração de antioxidantes por razões de higiene, abundância e máxima extração (SHAIDI; NACZK, 1995 Apud ANDREO; JORGE, 2006; MELO *et al.*, 2008).

No trabalho de (MELO *et al.*, 2008) a utilização da água (100%) no processo possibilitou a extração de um maior teor de polifenóis em quase todas as frutas estudadas: Abacaxi, acerola, Caju, goiaba, laranja cravo, laranja pêra, mamão Formosa, mamão Havaí, manga espada, manga rosa, melancia, melão espanhol, melão japonês, melão Orange, com exceção da pinha, que exibiu maior teor de fenólicos totais no extrato acetônico. Evidencia-se,

portanto, que a maior parte dos compostos fenólicos dessas frutas apresentam maior polaridade, sendo assim, mais hidrossolúveis.

O conhecimento sobre as propriedades antioxidantes de produtos naturais tem sido cada vez mais explorado, devido à tendência em usá-los para a substituição dos antioxidantes sintéticos, buscando assim menos efeitos colaterais. Outra vantagem dos antioxidantes naturais é que eles podem ser incluídos no cotidiano do indivíduo através da dieta. Trabalhos recentes apontam e recomendam o consumo de frutos e suas polpas por seu elevado valor nutricional, apresentando altos teores de fibras, vitamina C e carotenóides, destacando-se como fontes de compostos fenólicos com ação antioxidante (DELMONDES, *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2011; DEL RÉ; JORGE, 2012).

Além da atividade antioxidante produzida pelas substâncias provenientes das frutas consumidas diariamente pelas pessoas, a quantificação da capacidade antioxidante de frutos tem sido muito importante também para a utilização em produtos buscando resistência a oxidação visando estabilizar um alimento rico em gorduras. Um dos métodos mais empregados para avaliar a capacidade antioxidante de compostos específicos ou de extratos é o método seqüestrante do radical DPPH, o qual é uma ferramenta útil para avaliar o teor de substâncias com esta capacidade em frutas (ZAPATA; CORTES; ROJANO, 2013; PRADO 2009).

### **1.5 Aditivos em alimentos- antioxidantes**

Os aditivos alimentares tornaram-se obrigatórios na alimentação humana atualmente, principalmente por sua capacidade de manter a qualidade e a validade dos alimentos vendidos em supermercados. Entretanto, há estudos que associam a utilização inadequada desses componentes a efeitos prejudiciais à saúde, como o aparecimento de câncer, alergias e outras enfermidades (HONORATO *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de compostos indesejáveis oriundos da oxidação lipídica é um importante problema a ser resolvido a fim de se obter um prolongamento da vida útil de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, desta forma os aditivos acabaram atingindo todo o mundo, pois estão presentes em grande parte dos alimentos que são ingeridos todos os dias. As indústrias utilizam um grande número de técnicas com o objetivo de conservar e aprimorar os alimentos. Um dos aditivos muito utilizados são os antioxidantes, que prolongam o tempo de conservação de alimentos, protegendo-os contra a deterioração causada pela oxidação e rancificação. Este processo pode ocorrer através de quatro mecanismos segundo os quais um antioxidante pode funcionar: Doação de hidrogênio pelo antioxidante; doação de elétrons pelo

antioxidante; adição do lipídio ao anel aromático do antioxidante; formação de um complexo entre o lipídio e o anel aromático do antioxidante (CARVALHO, 2005; OLIVEIRA 2014; RAMALHO; JORGE, 2006).

A oxidação lipídica é considerada uma das principais causas da perda de qualidade nos alimentos. Com o intuito de retardá-la, faz-se necessário o uso de substâncias com poder antioxidante. Devido à crescente preocupação com a saúde, há uma procura maior por compostos provenientes de fontes naturais que substituam os antioxidantes sintéticos, os quais são atualmente muito utilizados, sendo que os mais conhecidos e adicionados em alimentos são o BHA, BHT, PG e TBHQ. Diversas fontes de produtos naturais como, por exemplo, as frutas, legumes, verduras, especiarias, grãos, entre outros, possuem compostos com atividade antioxidante, conhecidos por oferecerem ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que ocorrem nos alimentos (AUGUSTO *et al.*, 2015; RAMALHO; JORGE, 2006).

É reconhecido que os aditivos assumem um papel importante na produção de alimentos em larga escala, porém, deve haver uma maior preocupação quanto aos possíveis riscos toxicológicos provocados pela ingestão diária dessas substâncias. Sendo que grande parte dos produtos industrializados contém aditivos alimentares, principalmente corantes, conservadores e antioxidantes artificiais, podendo estes oferecer riscos à saúde (POLÔNIO; PERES; 2009).

A crescente mudança no hábito alimentar da população brasileira tem atraído a atenção dos órgãos reguladores e da comunidade científica, pois vem ocorrendo um aumento na substituição de alimentos *in natura* por alimentos processados, contribuindo desta forma para o empobrecimento da dieta humana. Além disto, a tecnologia aplicada pela indústria de alimentos com o intuito de aumentar o tempo de vida útil dos produtos oferecidos no mercado tem gerado questionamentos quanto à segurança do emprego de aditivos alimentares (AUGUSTO *et al.*, 2015).

Devido a todos estes fatos muitas pesquisas focam no estudo de substâncias naturais que possam ser utilizadas como aditivos antioxidantes nos alimentos sem oferecer riscos à saúde das pessoas. Podendo ser citado o trabalho desenvolvido por Egea *et al.*, 2010, que trabalhou com seis frutas e as quais mostraram resultados favoráveis para uma possível utilização das substâncias oriundas destas frutas como antioxidantes naturais com o intuito de substituir os aditivos sintéticos, bem como a sua utilização na produção de alimentos funcionais, com uma elevada atividade antioxidante. No entanto, foi esclarecido que é necessário mais estudos, pois, pouco se sabe sobre as interações sinérgicas ou antagônicas

entre os alimentos e os outros compostos, ou como essas interações podem afetar a capacidade antioxidante total de fruta.

### **1.6 Infravermelho**

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) é considerada uma técnica de grande importância para análise orgânica qualitativa e quantitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas. Possuem relevância também para determinação da pureza de substâncias orgânicas, bem como no controle e acompanhamento de reações e processos de separação. O uso desse método de análise traz uma série de vantagens, destacando-se a redução no tempo de análise, diminuição substancial nas quantidades de amostra e ampliação da capacidade de identificar ou caracterizar estruturas complexas, a interpretação desta análise é feita em termos de presença ou ausência de grupos funcionais (LOPES; FASCIO, 2004; MACIEL *et al.*, 2002).

A técnica baseia-se na atenuação de reflexão total devido a um contato muito tênue entre o feixe de luz com a amostra, denominada de absorção da amostra. Essa técnica possui a capacidade de produzir cristais que realizam reflexões múltiplas, fazendo com que a radiação entre em contato com a amostra por várias vezes, aumentando a sensibilidade térmica, o espectro é então obtido quando o espectro contínuo de luz atravessa a substância (LEITE; PRADO, 2012; CAROLEI, 2005). Esta técnica atualmente é bastante utilizada em trabalhos que estudam as caracterizações de compostos orgânicos (WAHAB *et al.*, 2012; NASCIMENTO, 2011).

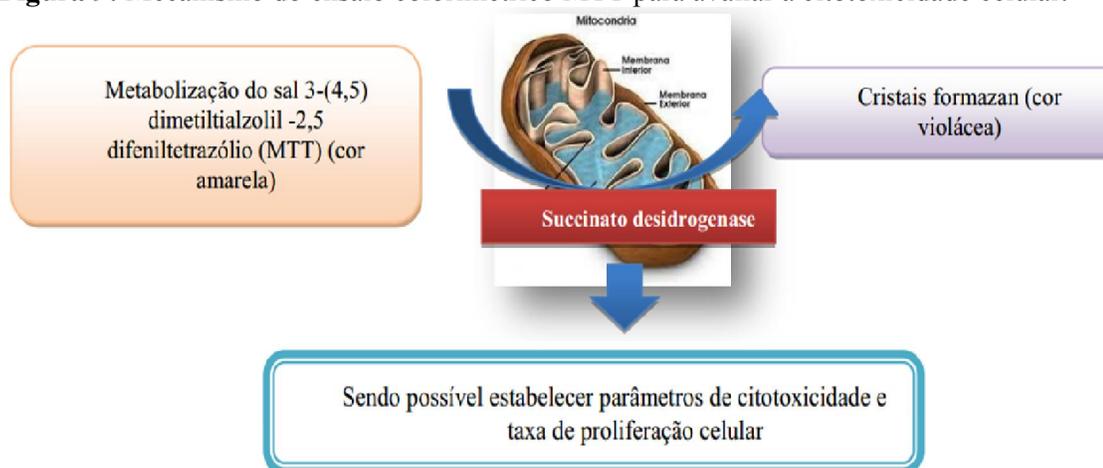
### **1.7 Teste de citotoxicidade- Método de MTT**

O termo citotoxicidade significa causa de efeitos tóxicos (morte, alterações na permeabilidade da membrana celular, inibição enzimática, etc) a nível celular. O ensaio de citotoxicidade é um procedimento que visa avaliar a biocompatibilidade de um produto, isto é, o quanto este pode ser tóxico para uma determinada célula (OLIVEIRA, 2011; PALMA 2008)

O teste do brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) é amplamente usado na determinação da viabilidade de células em cultivo, em pesquisa sobre o câncer, proliferação de celular e citotoxicidade de novos fármacos quimioterapêuticos. Este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pela substância no metabolismo celular de glicídeos, usualmente através da atividade de desidrogenases, sendo a atividade celular quantificada pela redução do (MTT) em células viáveis. O MTT é um sal de tetrazólio de cor

amarelada, que é internalizado nas células viáveis por endocitose e reduzido no microambiente intracelular por desidrogenases citoplasmáticas e mitocondriais em um sal de formazan, de cor azul violácea, insolúvel em meio aquoso. O MTT não reage diretamente com as desidrogenases, mas com os produtos da reação NADH ou NADPH (formas reduzidas da nicotinamida adenina dinucleotídeo e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatada, respectivamente, que atuam na glicólise e no ciclo de Krebs) que reduzem o MTT, que reduzem o MTT para a formazana correspondente. A formazana é acumulada dentro da célula, sendo extraída através da adição de um solvente apropriado, onde no teste é utilizado um agente surfactante para solubilização dos cristais formados. Os produtos finais são lidos por espectrofotometria (VELLONEN; HONKAKOSKI; URTTI; 2004; MACIEL *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 1997; MOSMANN, 1983, FERNANDES, 2013; CHAVÉS *et al.*, 2012). (Figura 9)

**Figura 9:** Mecanismo do ensaio colorimétrico MTT para avaliar a citotoxicidade celular.



Fonte: NASCIMENTO, 2013.

Vários trabalhos utilizam macrófagos RAW 264.7 de camundongos no teste de MTT, para avaliar a citotoxicidade de extratos, produtos e substâncias isoladas de plantas, podendo ser citados alguns desses trabalhos, realizados por SILVA, 2007; CARLOS *et al.*, 2009; NERY, 2014; FERNANDES, 2013; LONGO, 2013; PHILIPPI, 2008).

Os macrófagos são a primeira linha de defesa do organismo contra microrganismos. São fagócitos mononucleares que se diferenciam a partir de monócitos, sendo responsáveis não apenas pelo reconhecimento e eliminação de patógenos, mas também por promover a resolução da inflamação, por secretarem fatores anti-inflamatórios. Essas células apresentam complexo de Golgi bem desenvolvido, número variável de vesículas de endocitose e grande número de mitocôndrias (MAGDALON, 2011; GUIMARÃES; FILHO, 2009; CURI *et al.*, 2002).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Avaliação do potencial antioxidante, citotóxico e perfil químico das partes do fruto de *Cereus jamacaru* DC, visando incentivar o consumo e o aproveitamento industrial do fruto

### 2.2 Objetivos específicos.

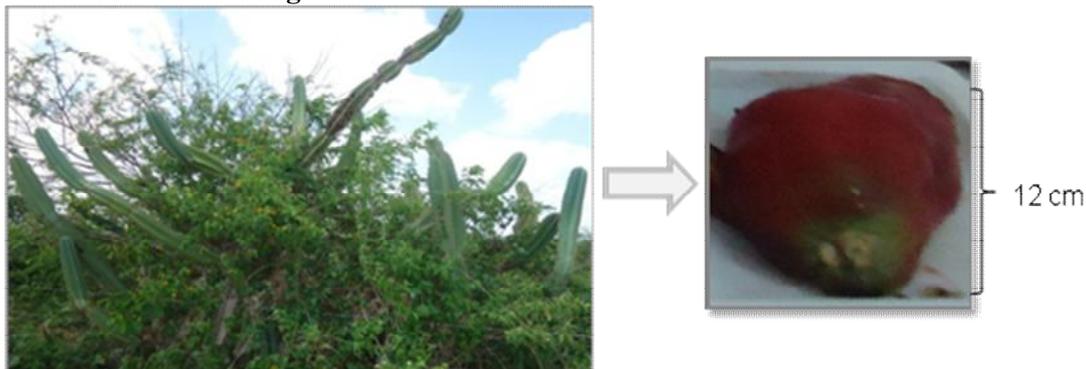
- Determinação da atividade antioxidante, perfil cinético e  $EC_{50}$  dos extratos em concentrações variadas pelo método de antioxidante DPPH;
- Avaliação da eficiência dos métodos de extração para cada parte do fruto através do perfil químico das amostras por espectroscopia no FTIR;
- Comparação da atividade antioxidante do fruto de *Cereus jamacaru* com outros frutos já conhecidos por possuírem esta capacidade;
- Avaliação da toxicidade dos extratos sobre macrófagos.

## 3. METODOLOGIA

### 3.1 Coleta do material vegetal.

Os frutos de *Cereus jamacaru* DC. foram coletados em fevereiro de 2014, na cidade de Guaraciaba do Norte Ceará, localizada na serra da Ibiapaba (Altitude de 800m, latitude 4° 14' 34. 55'' S, longitude 40° 52' 1. 82'' O). O material coletado foi retirado de uma planta anteriormente identificada e incorporado ao acervo do Herbário Prof. Francisco de Abreu Matos da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, sob o número de registro–16232 (Figura 10).

**Figura 10.** Planta onde foram coletados os frutos



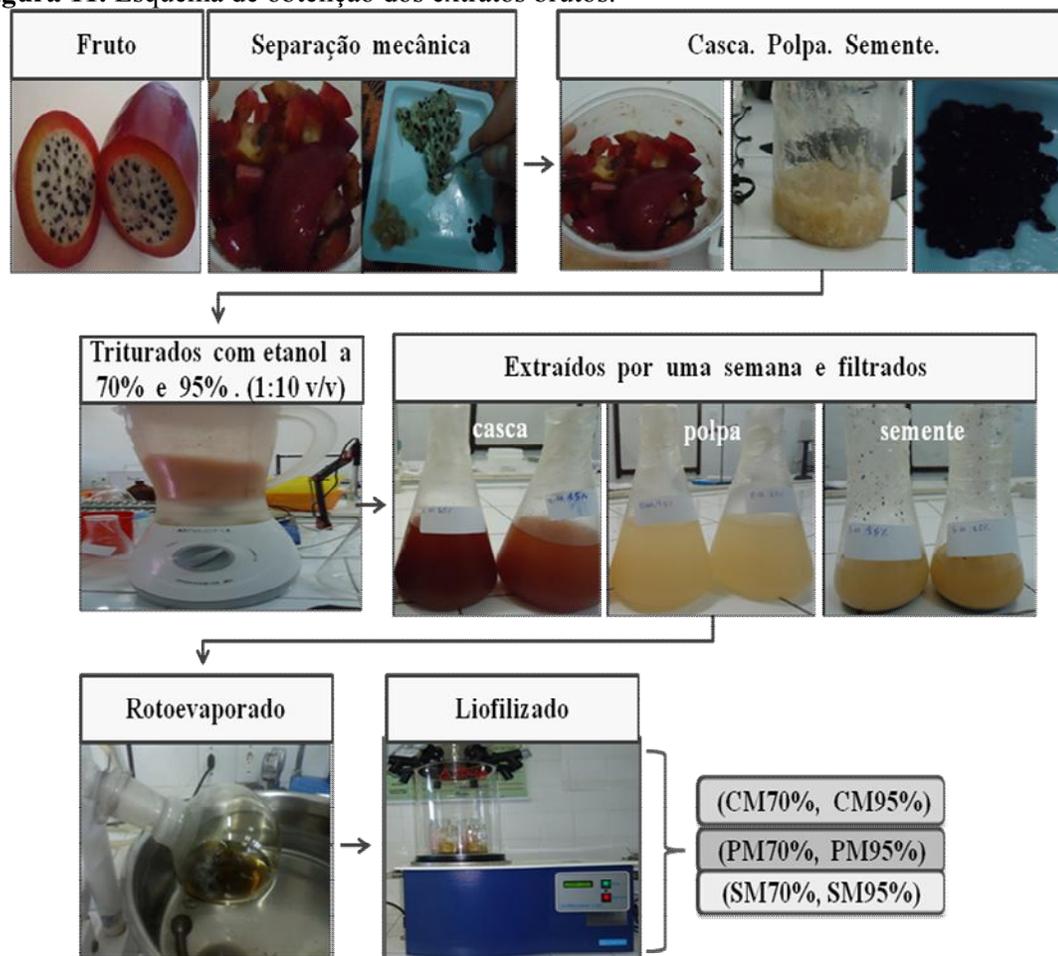
Fonte: Arquivo do autor.

### 3.2 Extração de metabólitos.

Os frutos foram preparados para as extrações com a devida assepsia, em seguida as partes do fruto foram separadas mecanicamente resultando em: casca (CM), polpa (PM) e semente (SM). As extrações foram realizadas com a temperatura do ambiente em 19 °C. As extrações foram feitas na concentração de 1:10 v/v de cada parte, com etanol 70% e 95%, a mistura foi triturada durante 5 minutos. Após uma semana de extração em sistema fechado, foi obtido o extrato bruto de cada amostra por filtração em papel de filtro. As porções obtidas foram rotoevaporadas a 40 rpm e 60°C, logo após, liofilizadas. Resultando em seis amostras (CM70%, CM95%, PM70%, PM95%, SM70%, SM95%) (MEDINA-TORRES *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2002; BURIOL *et al.*, 2009 com alterações). Extração observada na figura 11.

O emprego da combinação etanol e água é preferido por apresentar baixa toxicidade e elevado rendimento de extração, possibilitando a modulação da polaridade do solvente utilizando diferentes proporções de etanol:água (AGUSTO *et al.*, 2015).

**Figura 11.** Esquema de obtenção dos extratos brutos.



### 3.3 Análise dos extratos por espectroscopia no infravermelho

As amostras das partes do fruto de *Cereus jamacaru* liofilizadas (CM70%, CM95%, PM70%, PM95%, SM70%, SM95%), foram analisadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) por meio da técnica de reflectância total atenuada (ATR). As medidas foram realizadas na resolução de  $1\text{cm}^{-1}$ , de  $400$  a  $4000\text{cm}^{-1}$  com 40 varreduras em espectrômetro Alpha-T da Bruker (ALVES, 2008). A partir dos dados foram gerados os gráficos dos espectros de cada uma das amostras.

A partir das bandas espectrais de cada amostra, foi feito o estudo dos grupos funcionais, utilizando o site de análise espectroscópica (<http://www.science-andfun.de/tools/>). Os possíveis compostos químicos foram identificados através dos grupos funcionais em comparação com dados já disponíveis na literatura.

### 3.4 Análise da capacidade antioxidante pelo método DPPH.

O radical livre DPPH reage com o antioxidante, convertendo-se em sua forma reduzida. Nessa reação a solução de DPPH inicialmente violeta, torna-se amarela, sendo o grau de descoloramento monitorado através do espectrofotômetro, possibilitando calcular a eficiência do antioxidante em estudo (SOUSA *et al.*, 2007; PRADO, 2009).

As amostras para a realização do ensaio foram preparadas adicionando-se uma alíquota de 2,7 mL da solução etanólica de DPPH ( $40\text{mg/L}^{-1}$ ) a 300 $\mu\text{L}$  do extrato etanólico nas concentrações de (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500 e 2000  $\mu\text{g/mL}$ ) em triplicata. Após 30 minutos na ausência de luz, foram realizadas as leituras de absorbância a 517 nm em espectrofotômetro Ultrospec 110 Pro. O branco para cada amostra foi realizado adicionando-se 2,7 mL de etanol a 300  $\mu\text{L}$  das concentrações dos extratos. Como controle negativo foi usado a mistura de 2,7 mL da solução de DPPH com 300  $\mu\text{L}$  de etanol e como controles positivos utilizou-se 2,7 mL de DPPH e 300  $\mu\text{L}$  de cada concentração de  $\beta$ -caroteno e eugenol obtidos da Sigma (MARTÍNEZ-TOMÁS *et al.*, 2012; TASCA, 2007; SOUSA *et al.*, 2007; RIBEIRO, 2011 com adaptações) (Figura 12).

O controle  $\beta$ -caroteno foi escolhido como padrão por ser um carotenóide geralmente encontrado em frutas, estando entre os antioxidantes mais investigados, utilizados em experimentação *in vitro* em animais, inclusive o homem (RAMALHO, 2014; BATLOUNI, 1997; MUELLER; BOEHM, 2011). As propriedades antioxidantes do  $\beta$ -caroteno são atribuídas a sua estrutura química. Sua atuação parece centrar-se na atenuação da ação dos radicais de oxigênio nas membranas celulares. O  $\beta$ -caroteno pode também ser utilizado para complementar à ação de outros antioxidantes, uma vez que as vitaminas C, E,

glutathiona, peroxidase e catalase não atuam eficientemente em áreas do corpo com baixas concentrações de oxigênio, ao contrario do  $\beta$ -caroteno (TASCA, 2007).

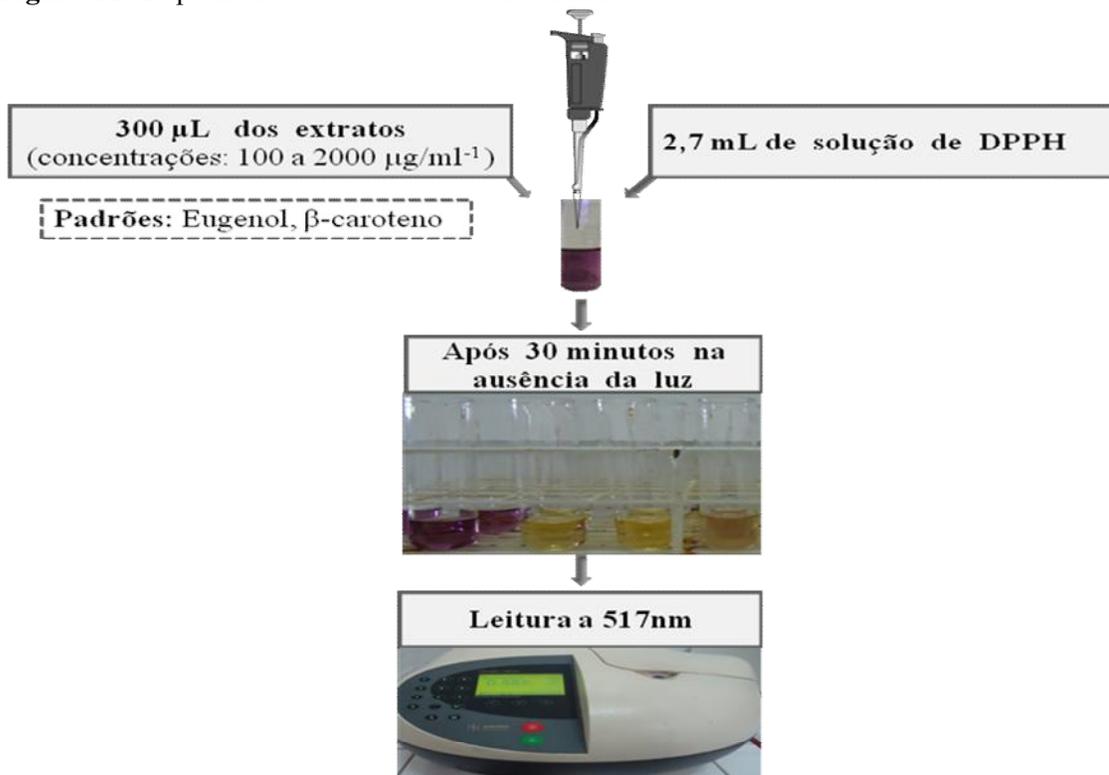
Compostos fenólicos são substâncias que estão presentes em frutos e outros tecidos vegetais, sendo bastante estudado por possuir capacidade antioxidante. O eugenol, o qual é utilizado como controle positivo, é um composto fenólico e possui excelentes propriedades antioxidantes, mostrando-se excelente em seqüestrar radicais livres, devido a presença do grupo hidroxil fenólico. Também é amplamente utilizado em indústrias farmacêuticas, cosméticas e odontológicas por agir como antiinflamatório, cicatrizante, anticéptico e analgésico (ALMEIDA *et al.*, 2012; SILVA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011, PERREIRA; MAIA, 2007). Apesar do uso freqüente na odontologia, o eugenol é neurotóxico e irritante das mucosas, especialmente quando administrado em doses inadequadas (ALONSO, 1998 Apud VALENTE *et al.*, 2009). Os dados obtidos das leituras de absorbâncias foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA%) segundo a fórmula 1.

**Fórmula 1.** Cálculo da porcentagem de AA%

$$AA\% = 100 - \{ [ Abs_{\text{extrato}} - Abs_{\text{branco}} ] \times 100 \} / Abs_{\text{controle}}$$

Fonte: (ANGÉLICO, 2011)

**Figura 12.** Esquema ilustrativo do teste antioxidante.



### 3.5 Análise estatística

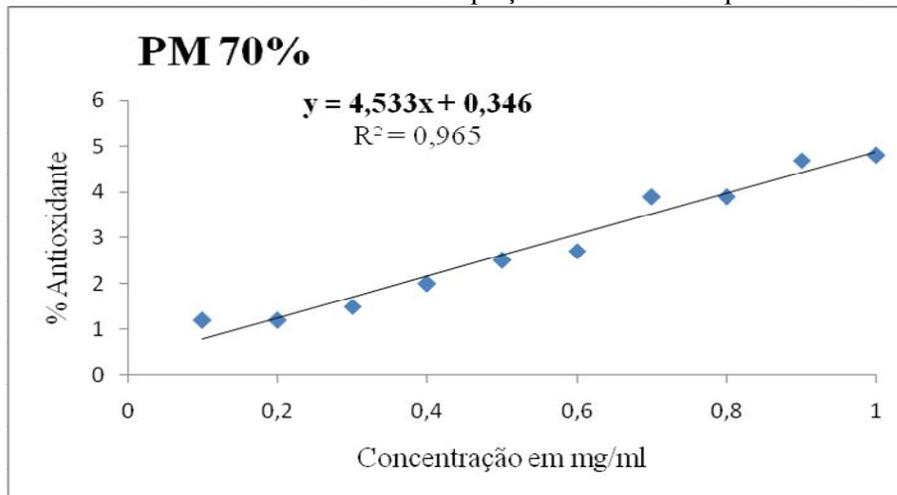
Para determinar a existência de diferenças significativas do efeito das diferentes concentrações de cada extrato etanólico (95% e 70% v/v) das partes do fruto de *Cereus jamacaru*, com controles positivos ( $\beta$ -caroteno e Eugenol) e entre si, foi utilizado o teste não-paramétrico Mann-Whitney para determinar a existência ou não de diferenças estatísticas significativas entre os grupos (PM 70%, PM 95%, CM 70%, CM 95%, SM 70% e SM 95%, e o  $\beta$ -caroteno e eugenol). O nível de significância utilizado foi de 0,01 ( $P \leq 0,01$ ).

### 3.6 Concentração Efetiva 50% (EC<sub>50</sub>).

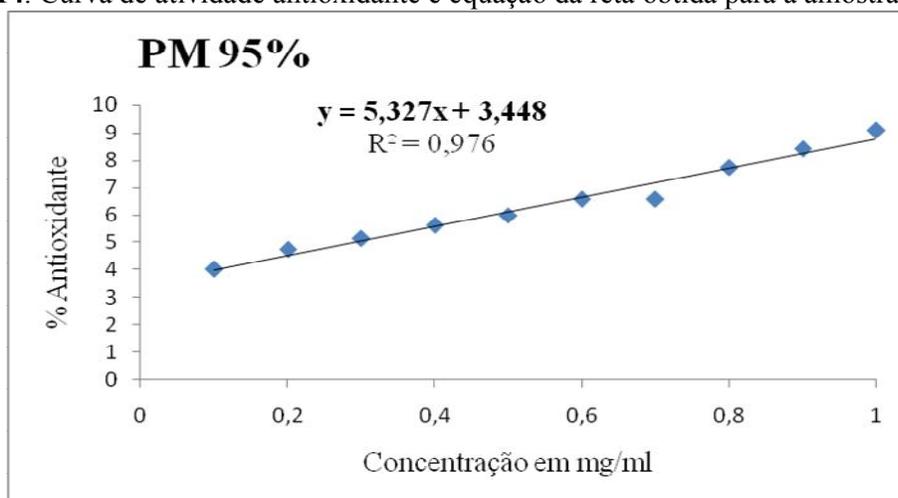
Uma das maneiras de expressar a atividade antioxidante pelo método de seqüestro do radical livre DPPH muito utilizada, é o estudo do material por meio do cálculo do EC<sub>50</sub>, que representa a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Quanto menor o valor de EC<sub>50</sub> apresentado pelo extrato, menor a quantidade do extrato que será necessária para reduzir 50% do radical livre DPPH e, portanto maior será sua atividade antioxidante (PRADO 2009; Lima 2008).

Para a curva das amostras PM70%, PM95%, CM70%, CM 95% e o controle  $\beta$ -caroteno foram utilizadas diferentes concentrações de 0,1 a 1 mg/mL. Para as amostras SM70%, SM95% a curva foi feita nas concentrações de 0,005 a 0,4 mg/mL, já para o Eugenol foi usadas 0,001 a 0,01 mg/mL. O cálculo do EC<sub>50</sub> foi feito a partir das absorbâncias obtidas das diferentes concentrações das amostras. Foi plotada a % de redução do DPPH no eixo Y e a concentração dos extratos (mg/mL) no eixo X, sendo determinado a equação da reta para cada amostra (Equação 1). (Figuras 13 a 20).

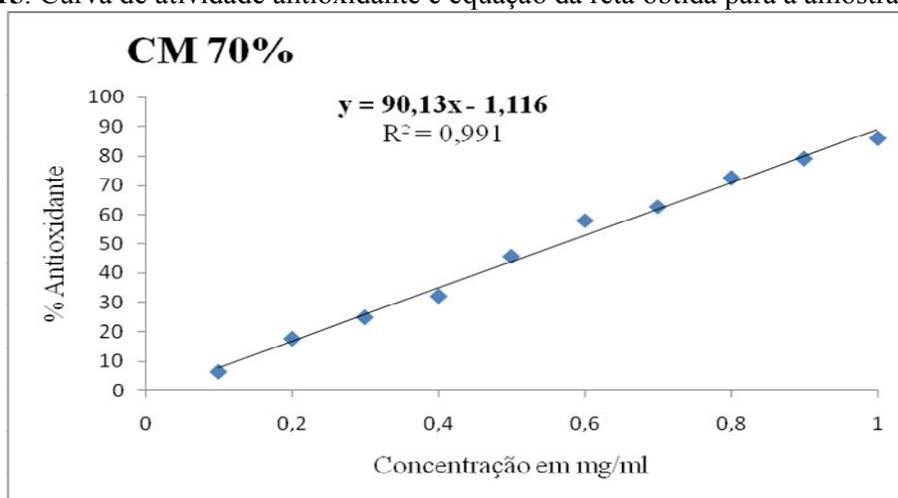
**Figura 13.** Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra PM70%.



**Figura 14.** Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra PM95%.



**Figura 15.** Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra CM70%.



**Figura 16.** Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra CM95%.

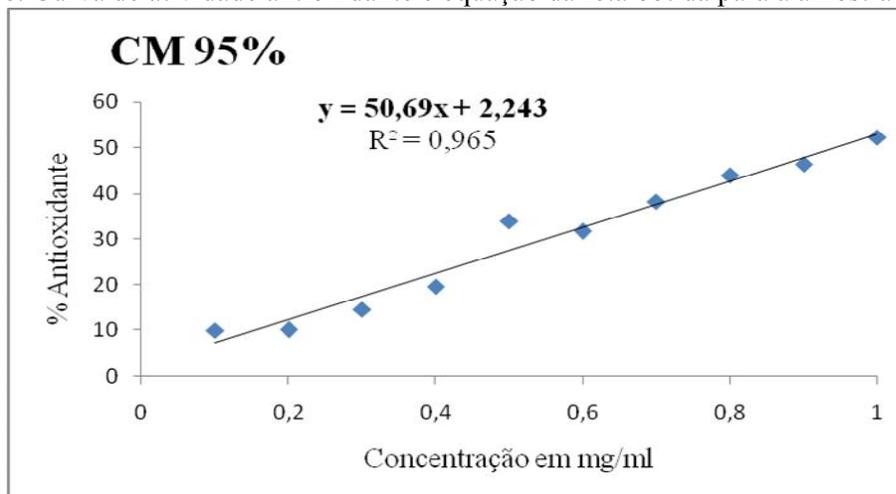


Figura 17. Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra SM70%.

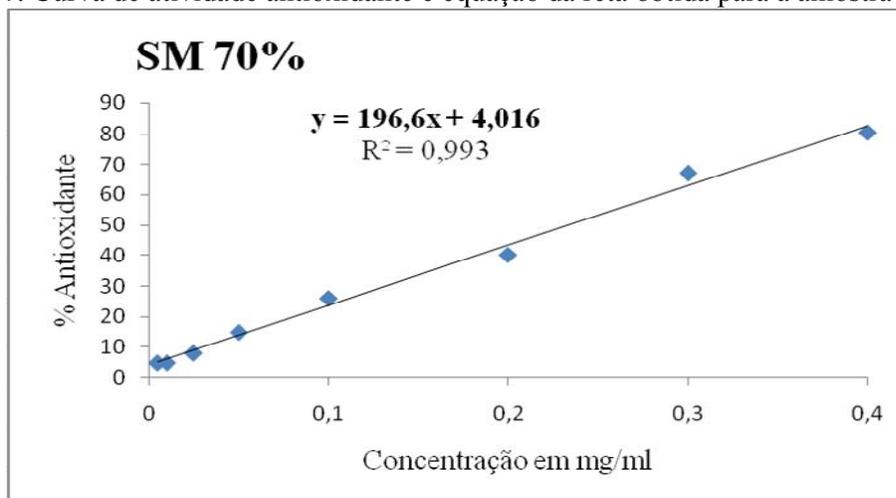


Figura 18. Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para a amostra SM95%.

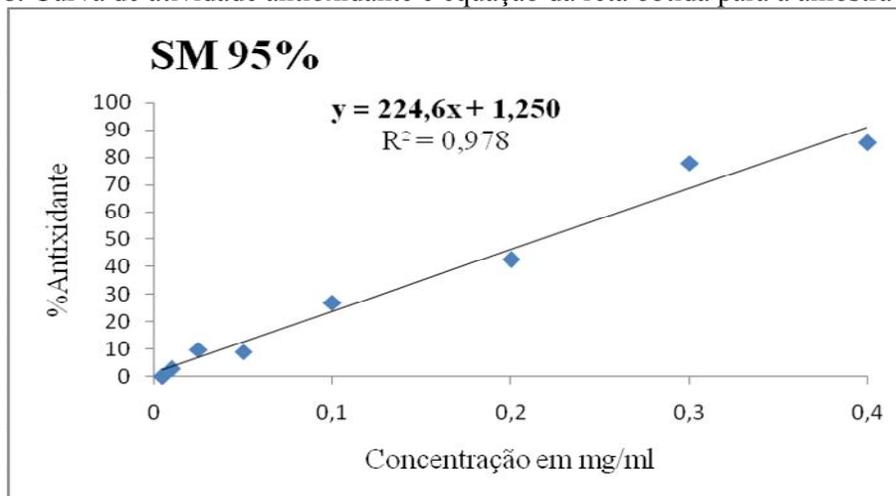
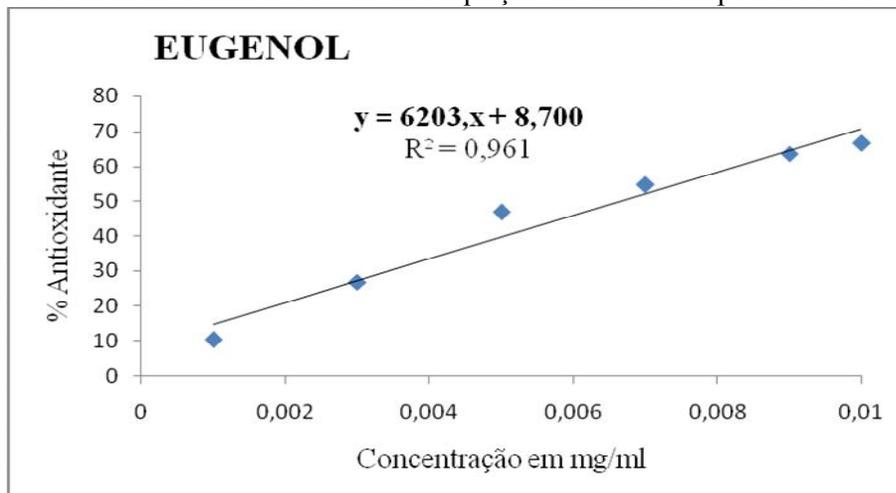
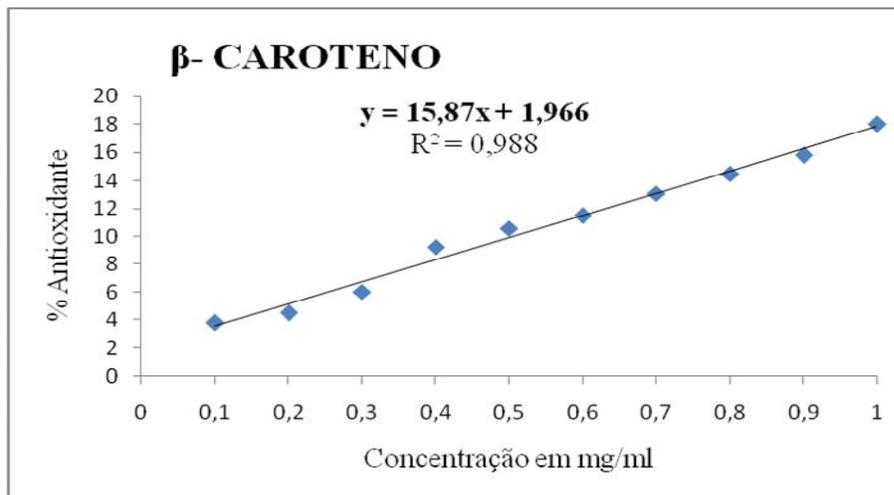


Figura 19. Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para o controle eugenol.



**Figura 20.** Curva de atividade antioxidante e equação da reta obtida para o controle  $\beta$ -caroteno.



Para calcular o  $EC_{50}$  utilizou-se a equação da reta obtida para cada amostra, substituindo o valor de  $y$  (Equação 1) por 50 para obter a concentração da amostra que possua a capacidade de reduzir 50% do DPPH (SANTOS *et al.*, 2011). Para que os resultados estejam menos sujeito a erros, o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) do intervalo de concentrações de cada amostra, deve estar acima de 0,90 demonstrando boa linearidade (LIMA, 2008).

**Equação 1:  $Y = -ax + b$**

Onde:  $y$  = % redução do DPPH;  $x$  =  $EC_{50}$  (mg/mL) (SANTOS *et al.*, 2011).

( $a$  e  $b$  são os parâmetros da reta obtida, sendo  $a$  o coeficiente angular e o  $b$  coeficiente linear).

**3.7 Perfil cinético das amostras pelo método de DPPH**

Foi adicionando uma alíquota de 1,8mL da solução etanólica de DPPH ( $40\text{mg/L}^{-1}$ ) a 200 $\mu\text{L}$  do extrato etanólico na concentração de 1000 $\mu\text{g/ml}$ , por ser uma concentração intermediária. O ensaio foi realizado em uma cubeta, a qual foi mantida dentro do espectrofotômetro durante todo o tempo da reação. As leituras foram realizadas para cada amostra, nos tempos de 2, 5,10, 20, 30, 40 e 60 minutos. O branco para cada amostra foi realizado adicionando-se 1,8 mL de etanol a 200  $\mu\text{L}$  das concentrações dos extratos. Como controle negativo foi usado a mistura de 1,8 mL da solução de DPPH com 200  $\mu\text{L}$  de etanol e como controles positivos utilizou-se 1,8 mL de DPPH e 200  $\mu\text{L}$  para o  $\beta$ -caroteno e 1,8 mL de DPPH com 200  $\mu\text{L}$  de eugenol. As leituras foram feitas a 517nm em espectrofotômetro Ultrospec 110 Pro. A temperatura do ambiente no momento do ensaio estava em 20°C.

(BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; SOUSA *et al.*, 2007 com adaptações). Com as medidas das absorbâncias foram calculados os percentuais de DPPH remanescentes (Formula 2).

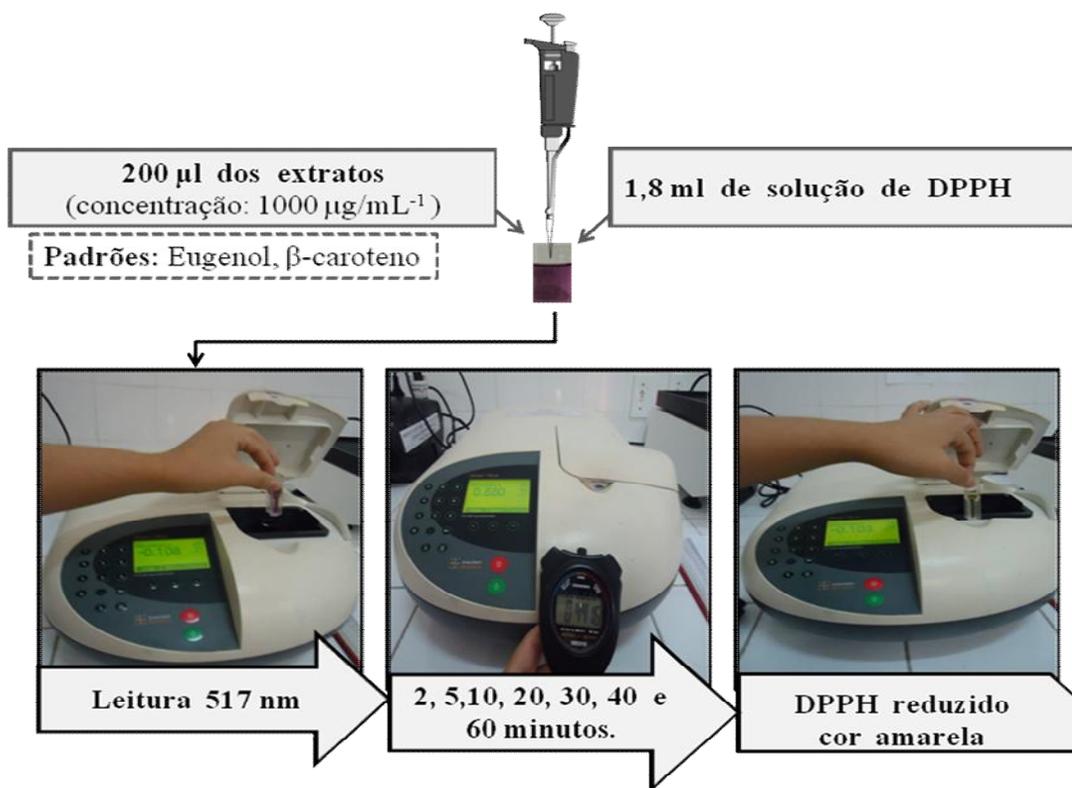
**Formula 2:** Percentuais de DPPH remanescentes (% DPPH<sub>REM</sub>)

$$\%DPPH_{REM} = [DPPH]_{T=t} / [DPPH]_{T=0} \times 100$$

(SOUSA *et al.*, 2007)

onde [DPPH]<sub>T=t</sub> corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com o extrato e [DPPH]<sub>T=0</sub> é a concentração inicial de DPPH.

**Figura 21.** Esquema do teste do perfil cinético antioxidante.



### 3.8 Análise estatística

Para determinar a existência de diferenças significativas entre cada extrato etanólico (95% e 70% v/v) das partes do fruto de *Cereus jamacaru*, com controles positivos (β-caroteno e Eugenol) e entre si, foi utilizado o teste não-paramétrico Mann-Whitney para determinar a existência ou não de diferenças estatísticas significativas entre os grupos (PM 70%, PM 95%, CM 70%, CM 95%, SM 70% e SM 95%%, e o β-caroteno e eugenol). O nível de significância utilizado foi de 0,01 ( $P \leq 0,01$ ).

### **3. 9 Determinação da citotoxicidade dos extratos do fruto de *Cereus jamacaru* D C. pelo teste de redução do MTT sobre macrófagos RAW 264.7 de camundongos.**

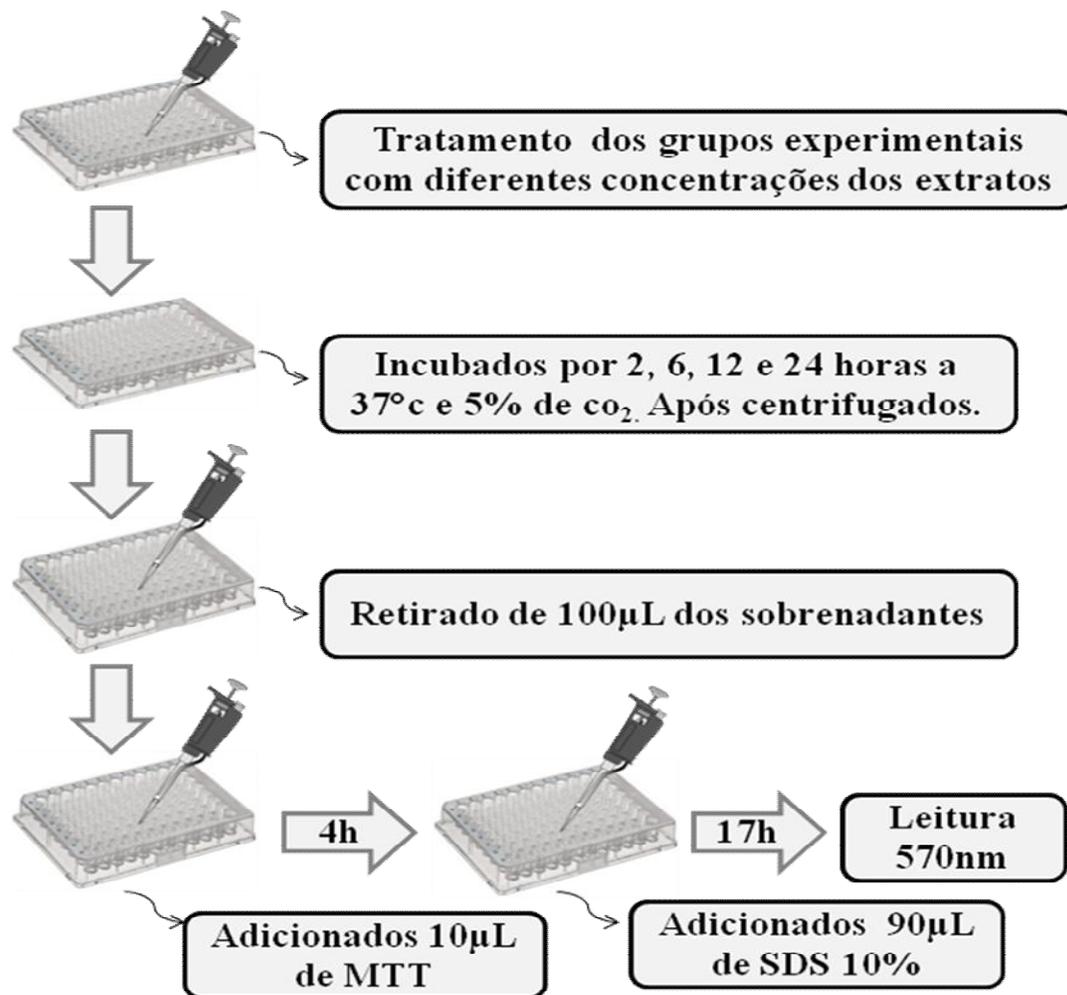
O teste MTT analisa a atividade mitocondrial celular, a qual permanece ativa somente nas células viáveis (OLIVEIRA, 2011).

Os testes de citotoxicidade foram realizados sobre células de macrófagos RAW 264.7 de camundongos *in vitro*. As células de macrófagos, foram obtidas a partir do cultivo celular do Laboratório de Cultivo Celular do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará.

Antes do experimento, as células foram mantidas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) sem SBF por 24 horas em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C para sincronização na fase G<sub>0</sub> do ciclo celular. Após esse período as células foram removidas e incubadas com tripsina-EDTA a 37° por 5 minutos e centrifugadas a 4000 RPM por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o *pellet* foi ressuspensão em 1 mL de meio DMEM completo. Alíquotas foram removidas para quantificação em Câmara de Neubauer. A concentração celular foi ajustada, e a suspensão foi pipetada na concentração final de 1×10<sup>5</sup> células/mL em placas com 96 poços. Após incubação por 24 horas as células foram utilizadas nos experimentos (NERY, 2014).

Para determinar o efeito citotóxico dos extratos sobre macrófagos, placas com os macrófagos, foram tratadas com diferentes concentrações dos extratos do fruto diluídas em DMSO 3% (2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 µg/mL), incubadas por 2, 6, 12 e 24 horas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Como controle negativo, foi utilizado PBS estéril, pH 7.4. Em seguida, as placas foram centrifugadas a 4000 RPM por 5 min e 100 µL de sobrenadante foram removidos. Após isto 10 µL de uma solução de MTT (Sigma®) a 2,5 mg/mL em PBS foram adicionados e a placa foi incubada por 4 horas a 37°C no escuro e, em seguida, 90 µL de dodecilsulfato de sódio (SDS) (10% em HCl 0,01N). Após 17 horas de incubação, as placas foram lidas em leitor de placas a 570 nm (Figura 14). Foram feitos dois experimentos em triplicata. Os dados foram expressos como porcentagem de viabilidade celular em relação ao controle negativo. (MOSMANN, 1983; LIU *et al.*, 1997). Segundo Lopes (2004), o DMSO em pequenas concentrações evita que o solvente interfira no ensaio.

**Figura 22.** Ensaio de redução do MTT.



### 3. 10 Análise estatística.

Foi realizado o teste estatístico ANOVA com pos-teste de Dunnet, utilizando  $p < 0,05$  como critério de significância. Os softwares utilizados foram Microsoft Excel 2010 e GraphPad Prism versão 5.01.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Espectroscopia no infravermelho – (FTIR)

O perfil químico das partes constituintes do fruto do mandacaru foi traçado a partir dos espectros obtidos pela análise no infravermelho. As bandas de absorção e suas atribuições estão sendo apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1:** Bandas de absorção das amostras das partes do fruto de *Cereus jamacaru* no infravermelho- (FTIR)

Numero de onda $\text{cm}^{-1}$ das bandas de absorção						
AMOSTRAS						ATRIBUIÇÕES
CM70%	CM95%	PM70%	PM95%	SM70%	SM95%	
3500-3000	3500-3000	3500-3000	3500-3000	3500-3000	3500-3000	Grupo O-H
2925	2925	-	-	2925	2925	Estiramento assimétrico C-H alifático
-	-	2915	2915	-	-	Estiramento assimétrico C-H alifático
-	-	-	-	-	2853	Estiramento assimétrico C-H alifático
-	-	-	-	-	1743	C = O cetona alifática
-	1721	-	-	-	-	C = O cetona alifática
-	-	1610	1610	-	-	N-H de flexão amina primária
-	-	-	-	1637	-	N-H de flexão amina primária
1570	1570					Vibração de alongamento assimétrico $\text{CO}_2^-$ (aminoácidos livres)
1515	1515	-	-	-	-	Amidas ou grupamentos carboxilatos de aminoácidos

AMOSTRAS						ATRIBUIÇÕES
CM70%	CM95%	PM70%	PM95%	SM70%	SM95%	
-	-	-	-	-	1455	CH <sub>2</sub> simétrico com deformação (Ésteres acíclicos)
-	-	1396	1396	-	-	Combinação de O-H com deformação de vibração e C-O com vibração de alongamento (característico de fenóis)
1378	-	-	-	1378	-	Combinação de O-H com deformação de vibração e C-O (característico de fenóis)
	1328					Éteres
-	-	-	-	1270	-	Éteres
1228	1228	-	-	-	-	Éteres
-	-	-	-	-	1158	Éteres Ou grupo C-O-C da celulose
-	-	-	-	-	1040	C-O vibração de alongamento (álcool)
1026	1026	1026	1026	1026	-	C-O vibração de alongamento (alcoóis seg. acíclicos)
820	820	-	-	-	-	Ligação C-H aromático fora do plano de vibrações de deformação (com dois átomos de H vizinhos)
-	770	770	770	-	-	Compostos de β-piranoose
-	-	-	-	-	720	C-H olefinico para os derivados insaturados
5050	630 e 550	550	550	500	500	-

As seis amostras apresentaram uma larga banda de absorção observada entre 3500-3000  $\text{cm}^{-1}$ , característica do grupo O-H, sendo de maior intensidade nas amostras (PM70% e PM95%) e de menor intensidade para a amostra SM95%. A faixa de absorção identificada sugere a presença de hidroxilas, grupos OH de fenóis e alcoóis de açúcares (ORTEGA *et al.*, 2007). A amostra SM70% apresentou pico dentro da banda larga em 3317  $\text{cm}^{-1}$ , possivelmente devido a polissacarídeos, pois estes apresentam bandas largas e intensas próximo de 3300  $\text{cm}^{-1}$  pelo estiramento do grupo O-H. Os carboidratos como as gomas, amido e celulose consistem em polissacarídeos que contém uma grande quantidade de grupos OH (LEITE, 2008) (Figuras de 23 a 28).

As amostras tanto da casca quanto da semente (CM70%, CM95% e SM70% e SM95%) apresentaram uma banda em 2925  $\text{cm}^{-1}$ , outra banda mais intensa 2853  $\text{cm}^{-1}$  foi observada apenas na SM95%. As amostras da polpa (PM70%, PM95%) também apresentaram espectro em 2915  $\text{cm}^{-1}$ . As três bandas descritas estão relacionadas a estiramentos assimétricos alifáticos da ligação C-H (Figuras de 23 a 28).

Os relativos estiramentos assimétricos e simétricos da ligação C-H, são comuns em várias classes de compostos alifáticos como ácidos, ésteres graxos, alcoóis de cadeia longa assim como esteróides, sugerindo também a presença de glicerídeos (ROSA, 2010; MARTINS *et al.*, 2010).

Os compostos químicos possuem um espectro único que os caracteriza, esse espectro é chamado de assinatura química, a qual compreende a zona de impressão digital localizada em geral entre 1000–1800  $\text{cm}^{-1}$  (NASCIMENTO, 2011). Todas as seis amostras apresentaram bandas espectrais dentro da faixa de assinatura química.

A amostra SM95% apresentou uma banda em 1743  $\text{cm}^{-1}$ , e a CM95% em 1721  $\text{cm}^{-1}$ , referentes às ligações (C = O cetona alifática), essas ligações correspondem ao alongamento simétrico da ligação C=O dos ácidos carboxílicos (Figuras 24 e 28). Devido às bandas terem sido observadas apenas nas amostras (SM95% e CM95%), pode ser sugerido que estes compostos presentes na casca e na semente foram solúveis apenas na extração etanólica a 95%.

Os espectros na faixa de 1800 - 1700  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionados à composição de lipídios, onde bandas em 1740 referem-se a estiramentos dos grupos funcionais éster de lipídios (ANDRADE, 2014; FARRO, 2008; NASCIMENTO, 2011; ALVAREZ-ORDÓÑEZ *et al.*, 2011). Segundo Junior, *et al.*, (2006), as absorções nessa região sugerem presença de carbonilas. Sendo que este grupo está presente em compostos como cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos (VOLLHARDT; SCHORE, 2013).

Somente três amostras apresentaram banda correspondente à absorção de ligações N-H de flexão referente a amins primárias, em  $1610\text{ cm}^{-1}$ , nas amostras PM70% e PM95%, e em  $1637\text{ cm}^{-1}$  para a amostra SM70% (SEEFELDT, 2014) (Figuras 25, 26 e 27).

Bandas de absorção em  $1570\text{ cm}^{-1}$  referem-se à vibração de alongamento assimétrico  $\text{CO}_2^-$  (aminoácidos livres), e em  $1515\text{ cm}^{-1}$  é característica de amidas ou grupamentos carboxilatos de aminoácidos, estas bandas foram observadas apenas nas amostras da casca (CM70% e CM95%), sendo o espectro  $1515\text{ cm}^{-1}$  de menor intensidade na amostra CM70% (Figuras 23 e 24).

O pico 1455 apareceu apenas na amostra SM95%, referente ao composto  $\text{CH}_2$  simétrico com vibração de formação característico de ésteres acíclicos (Figura 28). Segundo Calixto (2011) a banda média em torno de  $1460\text{ cm}^{-1}$  é indicativa de  $\text{CH}_2$ , próprio da cadeia hidrocarbônica dos ésteres de ácidos graxos.

Os lipídios ocorrem nos vegetais em maior frequência em sementes, frutos e folhas, sendo os ésteres geralmente encontrados em maior abundância nas sementes, constituindo os óleos vegetais. Os lipídeos e ácidos graxos são constituintes estruturais e metabólicos das células das plantas e de seus frutos, possuem também papel importante na qualidade sensorial dos alimentos, contribuindo para o sabor. Os ácidos graxos são um dos principais precursores dos compostos voláteis durante o amadurecimento do fruto, sendo estes o ácido palmítico, esteárico, oléico e linoléico (SASAKI, 2008; BLANCO- GOMIS, 2001).

Quatro amostras apresentaram bandas de absorção similares, uma em  $1396\text{ cm}^{-1}$  nas amostras PM70% e PM95%, e outra em  $1378\text{ cm}^{-1}$  observada nas amostras de CM70% e SM70%, demonstrando uma maior intensidade na amostra SM70%. As faixas de absorção dessas duas bandas correspondem à combinação de O-H com deformação de vibração e C-O com vibração de alongamento (característico de fenóis) (Figuras 23, 25, 26 e 27).

Bandas características de éteres apareceram apenas nas amostras da casca e semente extraídas com etanol a 70% e a 95%. A amostra CM95% apresentou banda em  $1328\text{ cm}^{-1}$  com absorção elevada, já uma banda em  $1228\text{ cm}^{-1}$  foi encontrada na amostra CM70% e na CM95%. Um espectro em  $1270\text{ cm}^{-1}$  foi observado apenas na SM70 %, outro em  $1158\text{ cm}^{-1}$  foi encontrado apenas na amostra SM95% como mostrado nas Figuras 23, 24, 27 e 28.

Segundo Junior, *et al.*, (2006) As bandas ocorridas entre a faixa de  $1100 - 1331\text{ cm}^{-1}$ , estão localizadas dentro da faixa de assinatura espectral do composto, sendo características de (éteres), sugerindo a presença de uma vasta classe de metabólitos secundários tais como: flavonóides, cumarinas, antraquinonas, alcalóides quinolínicos e quinolônicos e outros fenil propanóides.

Fora da faixa de assinatura química, foram identificadas algumas absorções. Uma banda de  $1026\text{ cm}^{-1}$  apareceu em quase todas as amostras, exceto na SM95%, a qual apresentou a banda  $1040\text{ cm}^{-1}$  (Figuras 23 a 28). As duas bandas observadas estão localizadas entre a faixa de  $1000\text{-}1090\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a estiramentos de ligações C–O de álcool, sendo a ligação C–O não acoplada de ésteres (CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2012; HOST, 2009).

Outra banda em  $820\text{ cm}^{-1}$  apareceu apenas nas amostras de casca (CM70% e CM95%) sendo referentes de ligações de C-H aromático fora do plano de vibrações de deformação (com dois átomos de H vizinhos) (Figuras 23 e 24).

O espectro em  $770\text{ cm}^{-1}$  foi observado nas amostras CM95%, PM70% e PM95%, esta banda é correspondente a Compostos de  $\beta$ -piranose (Figuras 24, 25 e 26). As piranoses são açúcares com um anel de seis membros. As estruturas anelares de monossacarídeos são similares a estruturas anelares de piranos com um anel de seis carbonos. A glicose é um monossacarídeo, a qual em solução, mais de 99% das estruturas estão em forma de piranoses. Geralmente o teor de açúcares totais de frutas é dado em g de glicose por 100g de fruta (MURRAY *et al.*, 2013; FONSÊNCIA, 2012).

Na amostra SM95% apareceu uma banda em  $720\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação C-H olefinico para os derivados insaturados (Figura 28). As frequências para derivados insaturados apresentam-se entre  $1000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ , com banda intensa próxima a  $720\text{ cm}^{-1}$  (CASTILHO-ALMEIDA *et al.*, 2012). Segundo leite (2008) vibrações entre  $750\text{-}700$  é característico de óleos.

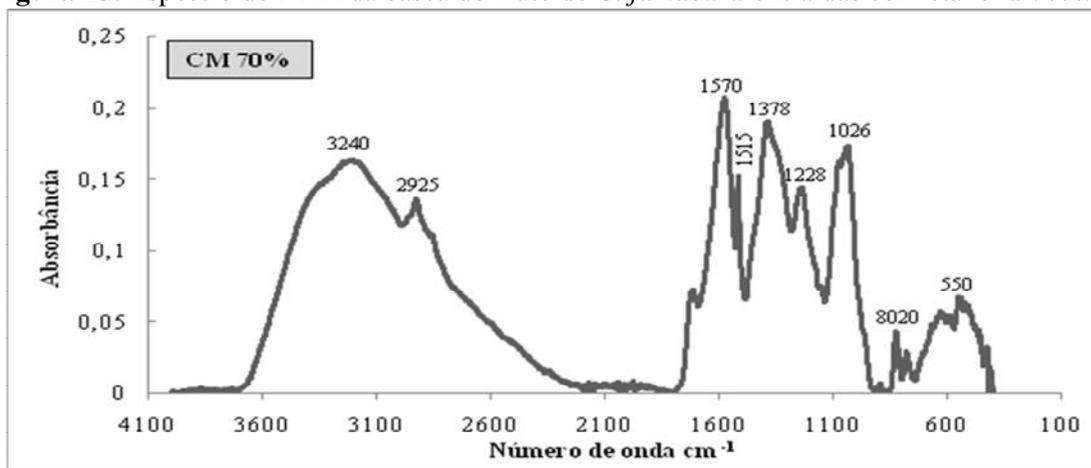
As amostras de casca CM70% e CM95% apresentaram em comum esteróides, fenóis, aminoácidos, metabólitos secundários, ácidos carboxílicos e açúcares. Já a amostra CM70% apresentou um pico a mais relativo a compostos fenólicos

As amostras de polpa PM70% e PM95% demonstraram serem ricas em fenóis, esteróides, açúcares e amins primárias.

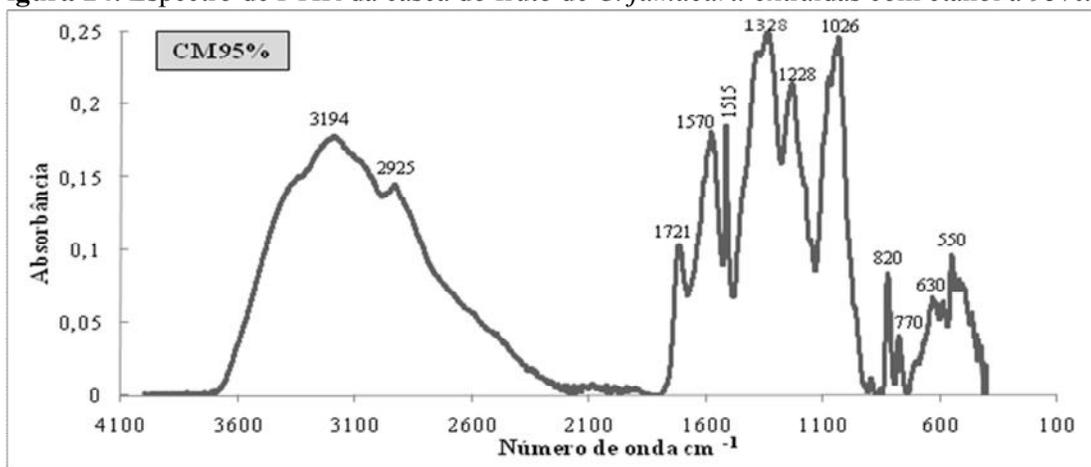
As amostras de sementes SM70% e SM95%, apresentaram em comum, compostos como açúcares, fenóis, metabólitos secundários e esteróides. Os polissacarídeos foram observados na amostra SM70%, já os ácidos carboxílicos, olefinicos e ácidos graxos foram identificados na amostra SM95%.

Os espectros característicos de metabólitos secundários foram observados apenas nas amostras de casca e semente.

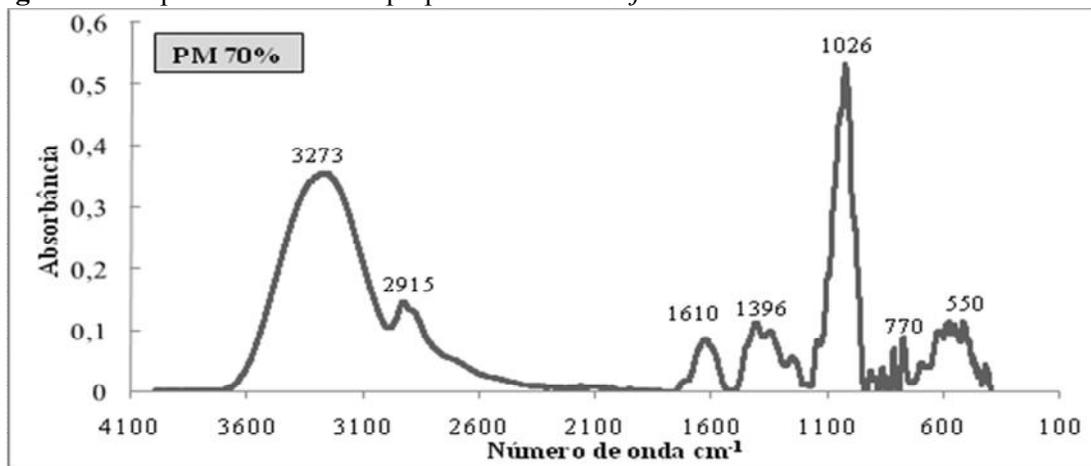
**Figura 23:** Espectro de FTIR da casca do fruto de *C. jamaru* extraídas com etanol a 70%.



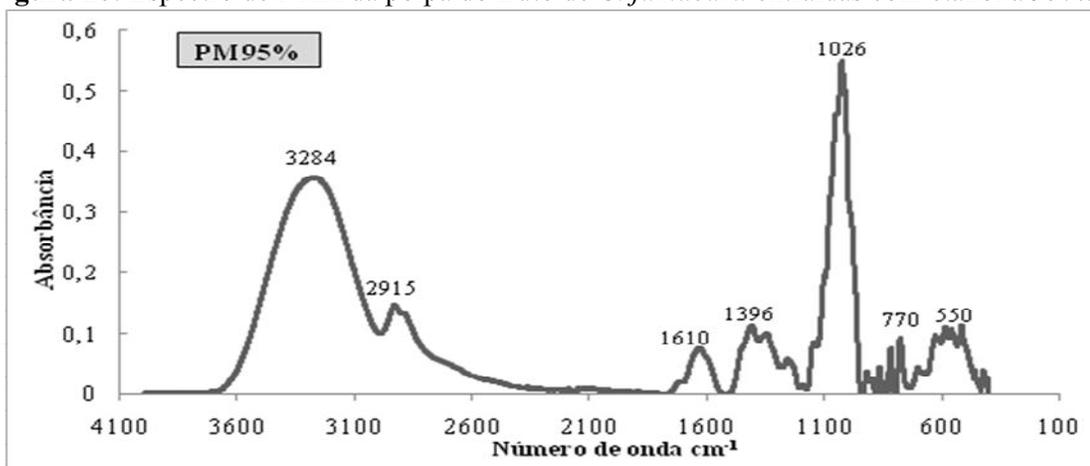
**Figura 24:** Espectro de FTIR da casca do fruto de *C. jamaru* extraídas com etanol a 95%.



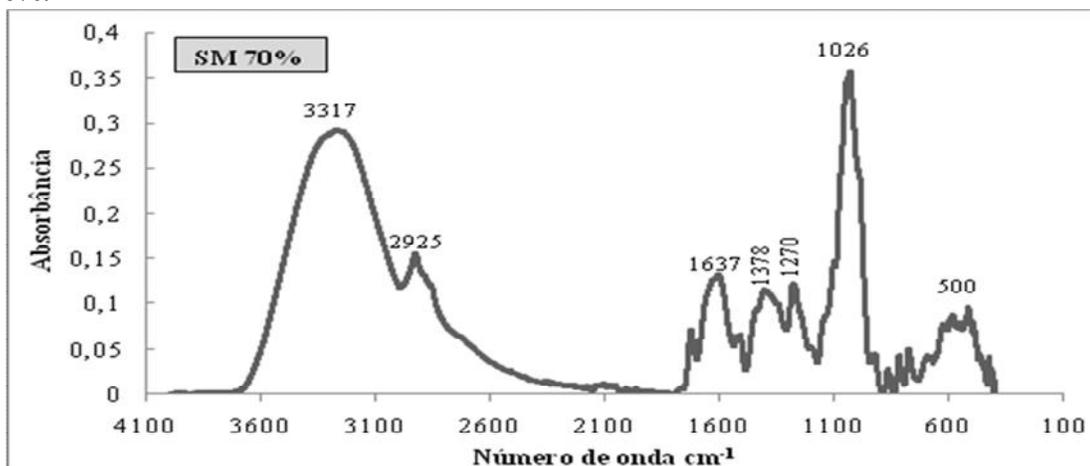
**Figura 25:** Espectro de FTIR da polpa do fruto de *C. jamaru* extraídas com etanol a 70%.



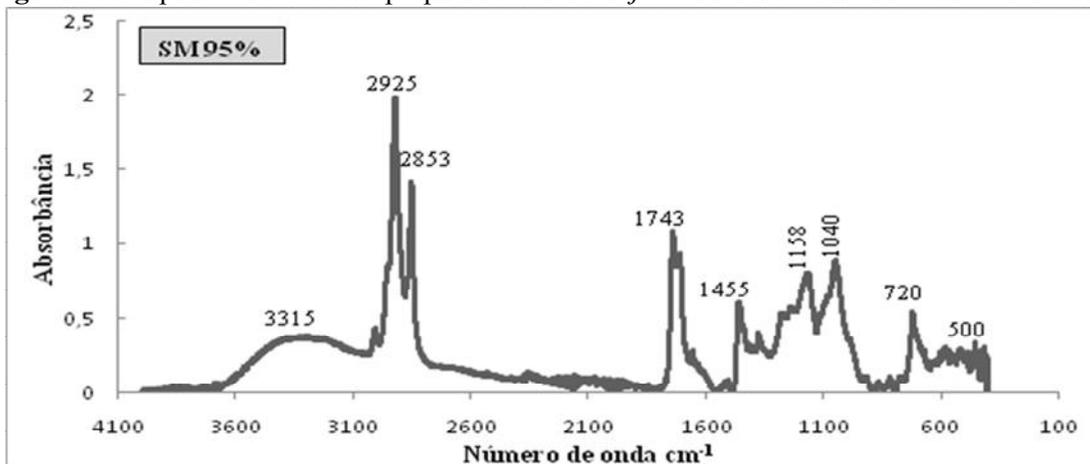
**Figura 26:** Espectro de FTIR da polpa do fruto de *C. jamacaru* extraídas com etanol a 95%.



**Figura 27:** Espectro de FTIR da semente do fruto de *C. jamacaru* extraídas com etanol a 70%.



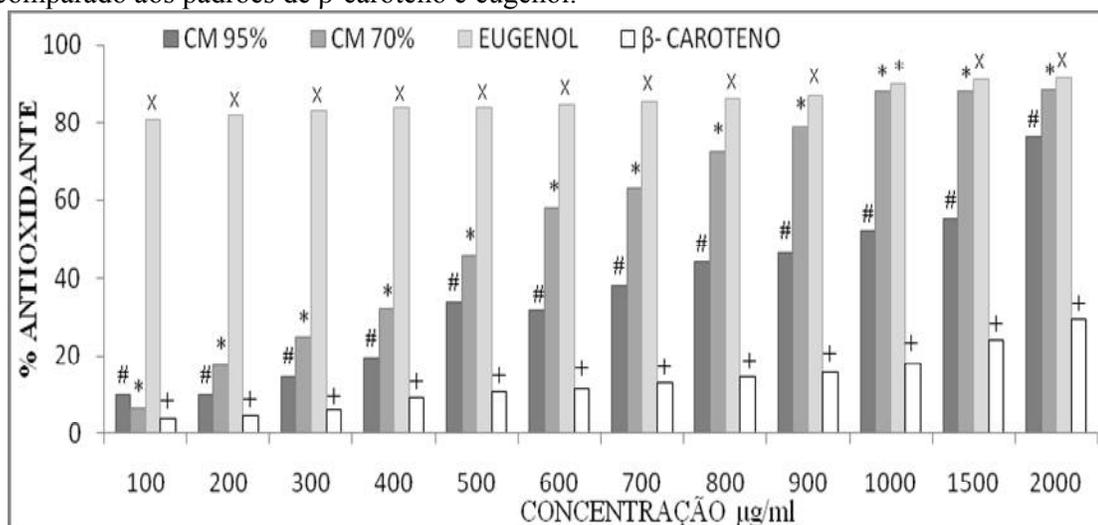
**Figura 28:** Espectro de FTIR da polpa do fruto de *C. jamacaru* extraídas com etanol a 95%.



#### 4.2 Avaliação da atividade antioxidante das partes do fruto de *Cereus jamacaru*.

A porcentagem de atividade antioxidante das partes do fruto de *Cereus jamacaru*, extraídas em diferentes concentrações de solvente estão sendo mostradas nas figuras 29, 30 e 31.

**Figura 29:** Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da casca do fruto de *Cereus jamacaru* (CM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparado aos padrões de  $\beta$ -caroteno e eugenol.



Dentro da mesma concentração, símbolos diferentes sobre as barras indicam a existência de diferença significativa e símbolos iguais indicam que não houve diferença significativa. Os valores de  $\pm$  desvio padrão mais altos exibidos representaram menos que 0,9% do valor da média da amostra.

Os extratos da casca do fruto apresentaram uma significativa atividade antioxidante. Quando comparados com o  $\beta$ -caroteno, os extratos da casca a 70% e 95% apresentaram atividade superior em todas as concentrações testadas. Quando comparadas ao eugenol, a amostra CM70% exibiu atividade aproximada a partir da concentração de 800  $\mu\text{g/ml}$  e igual na concentração de 1000  $\mu\text{g/ml}$ , já a CM95% apresentou atividade mediana ao eugenol em 500  $\mu\text{g/ml}$ , aumentando sua atividade nas concentrações maiores, chegando a aproximar-se do controle eugenol em 2000  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 29).

Quanto à concentração do solvente, a extração com etanol a 70% foi mais eficiente apresentando atividade antioxidante superior em quase todas as concentrações testadas, exceto na concentração de 100  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 29).

Essa forte atividade pode ser devido à presença de compostos conhecidos por possuir atividade antioxidante, os quais foram observados na análise do FTIR, podendo ser citados os

esteróides, fenóis, aminoácidos e metabólitos secundários como flavonóides, cumarinas, antraquinonas, alcalóides, fenil propanóides e compostos como ácidos carboxílicos.

Quanto à concentração do solvente, o fato da extração com etanol a 70% ter sido mais eficiente, pode ser explicada pela presença de um pico a mais para compostos fenólicos na amostra CM70%, além dos demais compostos similares apresentados nas duas concentrações. Também nesta concentração foi observado um número mais elevado de aminoácidos do que nas amostras extraídas a 95%.

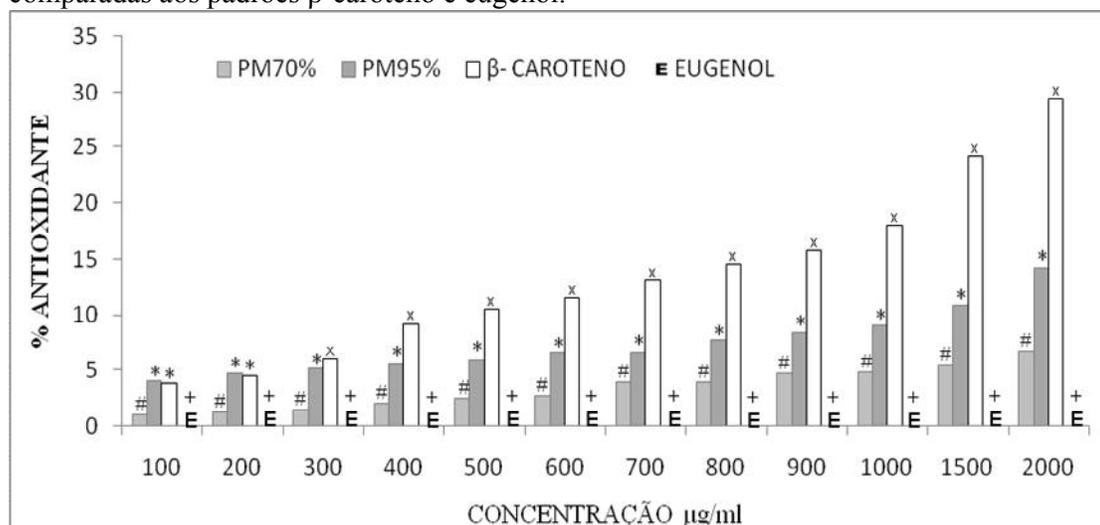
A capacidade antioxidante dos frutos está relacionada aos compostos hidrossolúveis, como compostos fenólicos e vitamina C (GONÇALVES, 2008). A maioria dos compostos fenólicos são encontrados na natureza, na forma de ésteres ou de heterosídeos, sendo solúveis em água, podendo também serem solúveis em solventes orgânicos apolares.

Segundo Daiuto *et al.*, (2014) o conteúdo de compostos fenólicos pode variar nas diferentes partes dos frutos, principalmente quando se comparam a casca e a polpa. Geralmente na casca, observa-se maior concentração de compostos fenólicos os quais tendem a se acumular na epiderme dos frutos, como forma de proteção à radiação ultravioleta e como defesa a determinados patógenos e predadores.

Nas amostras a atividade antioxidante das substâncias pode estar relacionada ao elevado número de hidroxilas e pelos compostos fenólicos, os quais são conhecidos como antioxidantes primários, que agem removendo ou inativando os radicais livres. É relatado que a atividade antioxidante está geralmente relacionada à quantidade de compostos fenólicos nas plantas. Estas substâncias reagem com radicais livres e substâncias carcinogênicas, protegendo assim o organismo contra vários tipos de cânceres e doenças cardiovasculares (DOSSIÊ ANTIOXIDANTES, 2009; QUEIROZ, 2009; BUENO, 2012).

Ambas as amostras de casca apresentaram aminoácidos livres. Segundo Silva *et al.*, (2013), hidrolisados protéicos de linhaça mostraram potencial antioxidante *in vitro*. Isto mostra que os peptídeos e aminoácidos podem também atuar como antioxidantes através da redução de espécies reativas do oxigênio, sendo que os aminoácidos antioxidantes atuam como doadores de prótons (LIMA, 2008).

**Figura 30:** Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da polpa do fruto de *Cereus jamacaru* (PM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparadas aos padrões  $\beta$ -caroteno e eugenol.



Dentro da mesma concentração, símbolos diferentes sobre as barras indicam a existência de diferença significativa e símbolos iguais indicam que não houve diferença significativa. (E- % Antioxidante do eugenol muito superior as amostras e ao  $\beta$ -caroteno). Os valores de  $\pm$  desvio padrão mais altos exibidos representaram menos que 0,5% do valor da média da amostra.

A PM70% quando comparada ao controle  $\beta$ -caroteno apresentou atividade moderada em todas as concentrações, já a amostra PM95% foi equiparável ao controle nas concentrações de 100 e 200  $\mu\text{g/ml}$ , demonstrando atividade mediana nas concentrações superiores a 400  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 30). Quando comparadas ao controle eugenol, este foi muito superior a porcentagem antioxidante das duas amostras de polpa.

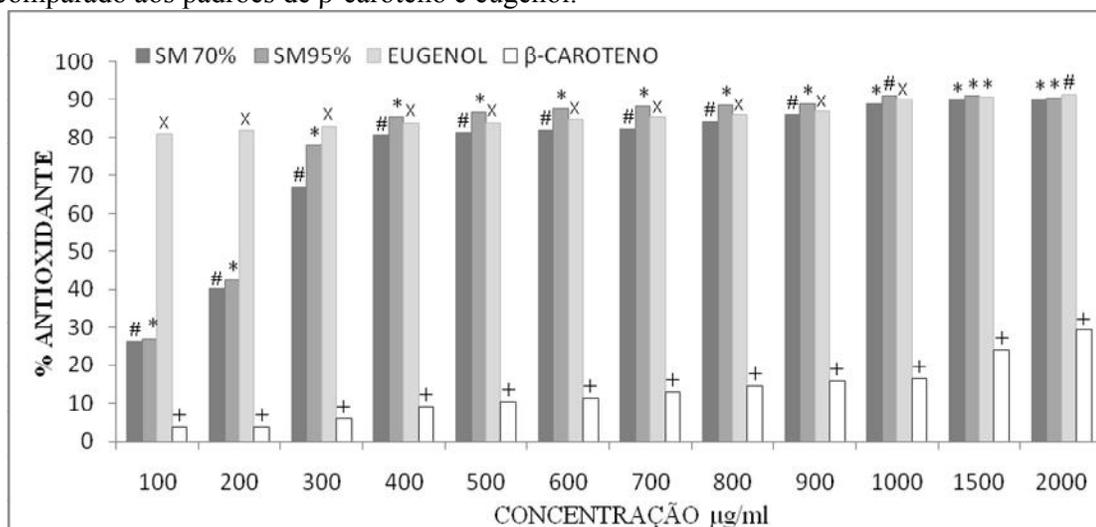
Quanto à concentração do solvente, a polpa extraída com etanol a 95%, apresentou um perfil de atividade superior em todas as concentrações testadas em comparação com a extração utilizando etanol a 70% (Figura 30).

Os perfis dos extratos PM70% e PM95% demonstraram ser ricos em fenóis simples ligados a hidroxilas, pertencente à classe dos não-flavonóides, podendo a atividade antioxidante observada está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas (SILVA *et al.*, 2010). Assim como a presença de esteróides que são constituintes potencialmente antioxidantes (PIETTA, 2000).

A maioria dos compostos fenólicos pode ser solúvel em água, contudo alguns apresentam solubilidade apenas em solventes orgânicos. Os esteróides por serem lipídeos são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos (TIVERON, 2010; GIOIELLI, 1996).

A maior eficiência antioxidante da CM95% pode ser devido aos esteróides e a alguns dos compostos fenólicos solúveis apenas em solventes orgânicos estarem presentes na polpa do fruto, extraído um pouco mais em uma maior concentração de álcool.

**Figura 31:** Porcentagem de atividade antioxidante referente ao extrato da semente do fruto de *Cereus jamacaru* (SM) extraído com etanol a 70% e 95% v/v, em concentrações variadas, comparado aos padrões de  $\beta$ -caroteno e eugenol.



Dentro da mesma concentração, símbolos diferentes sobre as barras indicam a existência de diferença significativa e símbolos iguais indicam que não houve diferença significativa. Os valores de  $\pm$  desvio padrão mais altos exibidos representaram menos que 0,9 % do valor da média da amostra.

Quando comparada ao  $\beta$ -caroteno, a atividade dos extratos da semente do mandacaru extraída a 70% (SM70%) e a 95% (SM95%) foram significativamente superiores ao controle. Em vista dos resultados obtidos, é possível concluir que a semente do mandacaru possui fortes compostos antioxidantes, sendo que a mesma apresentou porcentagem antioxidante aproximada ou similar à atividade exibida pelo eugenol, apresentando-se visível a partir da concentração de 400  $\mu\text{g/ml}$ . A amostra SM70% apresentou atividade antioxidante aproximada ao eugenol no intervalo das concentrações de 400 a 1000  $\mu\text{g/ml}$ , sendo similar ao controle em 1500  $\mu\text{g/ml}$ . Já a amostra SM95% exibiu atividade antioxidante próxima ao eugenol em 300  $\mu\text{g/ml}$ , e superior ao controle nas concentrações de 400 a 1000  $\mu\text{g/ml}$ , se igualando novamente ao mesmo na concentração de 1500  $\mu\text{g/ml}$  (Figura 31).

Quando ao tipo de concentração do extrato, foi verificado que a extração com etanol a 95% foi sensivelmente mais eficiente nas concentrações de 100 a 1000  $\mu\text{g/ml}$ , contudo nas concentrações de 1500 e 2000  $\mu\text{g/ml}$  os dois tipos de extração demonstraram a mesma eficiência (Figura 31).

A elevada atividade antioxidante apresentada pode ser devida a presença de uma vasta gama de compostos com capacidade antioxidante. As duas amostras (SM70% e SM95%) apresentaram em comum os compostos fenólicos simples, esteróides e metabólitos secundários como flavonóides entre outros etc. Na amostra SM70% também foi observado a presença de polissacarídeos, e mais de um espectro relativo a fenóis. Já a amostra SM95%

apresentou um pico extra, característico para os esteróides, além da presença de ácidos carboxílicos. Todos os compostos citados são considerados antioxidantes, desta forma é possível relacionar a presença destes com a eficiência antioxidante demonstrada nos dois tipos de extração apresentada.

Existem diversos relatos que mostram polissacarídeos obtidos de várias fontes, como animais, fungos, algas e plantas com atividade antioxidante podendo agir por diferentes mecanismos. As características que fazem com que os polissacarídeos ajam como antioxidantes multipotentes, deve-se a presença de moléculas altamente hidratadas e grupos hidroxila que podem servir como doadores e aceptores de hidrogênio, além disso, os grupos hidroxila funcionam também como sítios ativos para o seqüestro de radicais através da doação de átomos de hidrogênio (MORAIS, 2013).

Os extratos SM70% e SM95% apresentaram metabólitos secundários, nessa classe estão os flavonóides que são os compostos fenólicos mais amplamente distribuídos em alimentos de origem vegetal, sendo, portanto, constituintes importantes da dieta humana. Os compostos fenólicos podem complementar e contribuir para as funções de vitaminas e enzimas antioxidantes, como defesas contra o estresse oxidativo (CALLONI, 2014). Segundo Zapata; Cortes; Rojano, (2013) os metabólitos secundários polifenólicos possuem estruturas, que determinam a atividade antioxidante de frutas, devido à sua capacidade de doar elétrons e prótons e neutralizar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. São exemplos de polifenólicos encontrados em vegetais (ácidos fenólicos e flavonóides) (LIMA 2008).

A amostra SM95% apresentou também ácidos carboxílicos. Os ácidos carboxílicos são empregados pela indústria como conservantes e antioxidantes como exemplo podem ser citados o ácido cítrico e o ácido ascórbico (FIORUCCI; SOARES; CAVALLHEIRO, 2002). Os fenóis são chamados de ácidos carbólicos, inclusive o eugenol é um fenol, podendo ser encontrado no cravo da índia, sendo conhecido por possuir propriedades antioxidantes (DIONISIO; MEIRELLES, 2003).

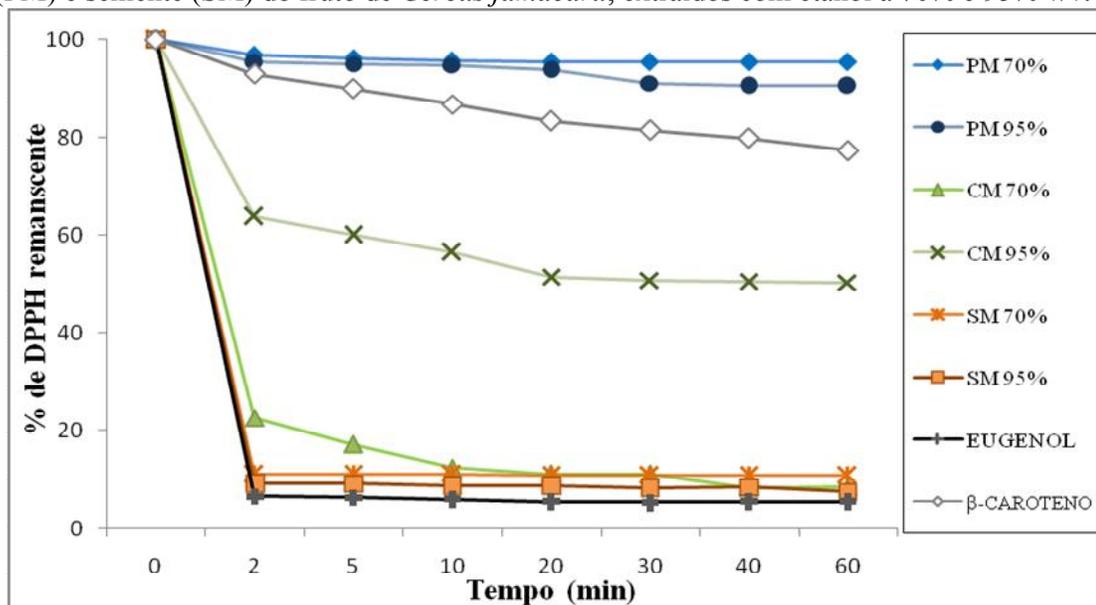
Desta forma podemos dizer que os extratos da semente apresentaram atividade antioxidante muito semelhante ao eugenol podendo ser utilizado para diversas aplicações na indústria, além disto, os extratos de semente apresentaram uma vantagem muito importante por não serem citotóxicos, oferecendo uma maior segurança para suas possíveis utilizações.

Resultados encontrados por Daiuto *et al.*, (2014) para o abacate, foram similares aos encontrados para fruto do mandacaru nesse estudo, onde a casca e a semente apresentaram maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em relação à polpa.

De acordo com os resultados pode ser concluído que os extratos da casca e da semente do fruto de *Cereus jamacaru* destacaram-se por apresentar metabólitos secundários e vasta gama de compostos com potencial antioxidante, conseqüentemente maior porcentagem de atividade antioxidante que os extratos da polpa.

#### 4.3 Perfil cinético das amostras

**Figura 32:** Comportamento cinético de (1000 $\mu$ g/ml) dos extratos de casca (CM), polpa (PM) e semente (SM) do fruto de *Cereus jamacaru*, extraídos com etanol a 70% e 95% v/v.



Os valores de  $\pm$  desvio padrão mais altos exibidos representaram menos que 1,4% do valor da média da amostra. ( $\pm$  desvio padrão feito sobre a média sobre três repetições).

O comportamento cinético dos extratos (PM70%, PM95%, CM70%, CM95%, e SM70%, SM95%) e dos controles, ambos na concentração de 1000 $\mu$ g/ml, frente ao radical DPPH, é mostrado na Figura 32, através na curva de dose-resposta relativa ao decréscimo da porcentagem remanescente de DPPH (% DPPH REM) em função do tempo em minutos.

Segundo moura (2014) é necessária a determinação de cinética de resíduos analisados, pois há substâncias antioxidantes que reagem de forma particular com o DPPH implicando em cinética diferenciada. Desta forma quando se avalia a atividade antioxidante de extratos de plantas, os quais são constituídos por uma variedade indefinida de compostos com potencial antioxidante, torna-se imprescindível estudar o comportamento desses em vários intervalos de tempo, visando determinar a cinética adequada (CARPES, 2008).

A evolução da reação cinética depende da natureza do antioxidante a ser testado. Podendo ocorrer três tipos de comportamentos cinéticos entre as amostras: cinética rápida, quando reagem rapidamente com o DPPH, início da reação em menos de 5 minutos; cinética intermediária, com reações entre 5 e 30 minutos; e cinética lenta quando a reação demora mais de 30 minutos para terminar (CARPES *et al.*, 2008).

O eugenol é conhecido por ter cinética rápida e o  $\beta$ -caroteno por ter cinética mais lenta, sendo necessário avaliar o comportamento cinético de cada amostra, por serem compostas de antioxidantes variados.

Observou-se que as amostras da semente apresentaram cinética rápida, atingindo praticamente o máximo de consumo do DPPH no segundo minuto de reação, com uma porcentagem de redução do DPPH em 89,05% frente a SM70% e de 90,1% para a SM95%. A amostra de CM70% também apresentou cinética rápida com uma redução de 82,9% do DPPH em dois minutos de reação (Figura 32).

As substâncias extraídas nas três amostras (SM70%, SM95% e CM70%,) apresentam alta reatividade com o radical DPPH, com cinética comparável ao eugenol que reduz 93,7% de DPPH no tempo de 2 minutos, sendo as amostras da semente mais similares ao controle eugenol. Quanto ao controle  $\beta$ -caroteno as três amostras foram muito superiores quanto ao tempo e a eficiência da reação (Figura 32).

A amostra CM95% apresentou um perfil cinético intermediário reduzindo em 2 minutos 36,25% do DPPH e atingindo a estabilidade da reação em de 30 minutos com 50% de redução do oxidante. Sendo mais eficiente que o  $\beta$ -caroteno, o qual apresentou cinética lenta, sendo que no tempo limite de 60 minutos reduziu apenas 22,69% do DPPH. A amostra exibiu um perfil mediano quando comparada ao eugenol (Figura 32).

As amostras da polpa apresentaram cinética e eficiência de redução total mediana quando comparadas ao  $\beta$ -caroteno ao longo de todo o tempo. Portanto apresentando cinética lenta (Figura 32).

As amostras do fruto de *Cereus jamacaru* apresentaram os três perfis de cinética: Rápida para as amostras SM70%, SM95% e CM70%; Intermediária para a amostra CM95%. Lenta para as amostras PM70% e PM95%. Podemos comparar os perfis das amostras com alguns compostos já conhecidos e usados que reagem lentamente, como o BHT e BHA, e os compostos de cinética rápida, como o ácido ascórbico e isogenol, e os de cinética intermediária, como o  $\alpha$ -tocoferol e o ácido rosmarínico (CARPES *et al.*, 2008).

#### 4.4 Valores de EC<sub>50</sub> (Concentração Mínima Eficiente)

O EC<sub>50</sub> foi calculado a partir da curva obtida entre a concentração do antioxidante e o sequestro do radical. O intervalo de concentração utilizado para cada amostra, o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) e a equação da reta obtida estão dispostos na tabela 2. Todas as amostras apresentaram ( $r^2$ ) acima de 0,90 demonstrando boa linearidade (LIMA, 2008).

**Tabela 2:** Intervalos das concentrações utilizadas, equações da reta e coeficientes de correlação linear ( $r^2$ ), obtidos pelos extratos de casca, polpa e semente extraídos com etanol a 70% e 95%, na avaliação antioxidante pelo método de redução do DPPH.

Amostras	Concentração (mg/ml)	Equação da reta	$r^2$
CM70%	0,1 – 1	$y = 90,13x - 1,116$	0,991
CM95%	0,1 – 1	$y = 50,69x + 2,243$	0,965
PM70%	0,1 – 1	$y = 4,533x + 0,346$	0,965
PM95%	0,1 – 1	$y = 5,327x + 3,448$	0,976
SM70%	0,005 – 0,04	$y = 196,6x + 4,016$	0,993
SM95%	0,005 – 0,04	$y = 224,6x + 1,250$	0,978
Eugenol	0,001 – 0,01	$y = 6203,6x + 8,700$	0,961
$\beta$ -caroteno	0,1 – 1	$y = 15,87x + 1,966$	0,988

Através da equação da reta determinada para cada amostra (tabela 2), foi calculada a concentração mínima efetiva para reduzir 50% do radical PDDH inicial (EC<sub>50</sub>), das amostras e dos controles, mostrado na (Tabela 3).

**TABELA 3:** Capacidade antioxidante (EC<sub>50</sub> em mg/mL) dos extratos de casca polpa e semente de *Cereus jamacaru* DC, extraídos com etanol a 70% e a 95%.

Amostras	EC <sub>50</sub> mg/mL
CM70%	0,56 mg/mL
CM95%	0,94 mg/mL
PM70%	10,95 mg/mL
PM95%	8,73 mg/mL
SM70%	0,233 mg/mL
SM95%	0,217 mg/mL
Eugenol	0,0066mg/mL
$\beta$ -caroteno	3 mg/mL

O extrato CM95% apresentou  $EC_{50} = 0,94$  mg/mL, já o extrato CM70% apresentou um menor valor de  $EC_{50} = 0,56$  mg/mL. As duas extrações exibiram  $EC_{50}$  muito menor que do  $\beta$ -caroteno, se aproximando mais do eugenol, o que explica a eficiente atividade antioxidante das amostras (Tabela 3).

As amostras de casca demonstraram maior eficiência quando comparadas a resultados referentes a estudos feitos com diversas frutas como o bacuri, o qual tem  $EC_{50}$  de 2.35 mg/mL, o tamarindo ( $EC_{50} = 1.431$  mg/mL), abacaxi ( $EC_{50} = 3.293$  mg/ml), maracujá ( $EC_{50} = 1,62$  mg/ml), goiaba ( $EC_{50} = 2,36$  mg/ml), melão ( $EC_{50} = 6,14$  mg/ml) e pitanga com  $EC_{50}$  de 1,19 mg/ml. A amostra da casca CM70% destacou-se por ser comparável a graviola com  $EC_{50}$  apenas de 0.612 mg/mL e ao cupuaçu com  $EC_{50}$  de 0,554 mg/ml, demonstrando desta forma um maior potencial antioxidante (VIEIRA *et al.*, 2011; SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011, PRADO, 2009).

A amostra PM70% apresentou um  $EC_{50}$  de 10,95 mg/mL, já a PM95% apresentou um menor  $EC_{50}$  no valor de 8,73 mg/mL (Tabela 3). Embora o extrato PM95% tenha apresentado um  $EC_{50}$  maior que os extratos da casca e da semente do fruto, ele pode ser comparável a eficiência da manga que apresentou  $EC_{50}$  de 8 mg/mL segundo estudo de PRADO, (2009). Oliveira (2010) relata que uma amostra com  $EC_{50}$  em torno de 9mg/ml, apresenta potencial antioxidante.

As amostras das sementes apresentaram os menores valores de  $EC_{50}$ , quando comparado a casca e a polpa do fruto, concluindo-se assim que a semente contém substâncias antioxidantes mais potentes em relação às demais partes do fruto. Os valores de  $EC_{50}$  para a SM95% foi de 0,217 mg/mL e para a SM70% de 0,233 mg/mL. Sendo que a extração na concentração de 95% de etanol demonstrou maior eficiência, pois, precisa-se de uma menor quantidade de material para a obtenção de uma atividade antioxidante de 50% (Tabela 3).

A semente do mandacaru destacou-se entre sementes de frutos com ação antioxidante já estudados. As amostras da semente apresentaram  $EC_{50}$  menor do que sementes do cacau apresentado por Salvador, (2011) em que o cacau apresentou forte atividade antioxidante com  $EC_{50}$  de 0,81 mg/mL, demonstrou também melhor eficiência que a amêndoa do babaçu com  $EC_{50}$  em torno de 3 mg/mL (VIEIRA, 2011), e ainda melhor do que o caroço de abacate que possui  $EC_{50}$  de 1,71 mg/mL (MOREIRA; CARDINES; TENREIRO, 2010).

Os valores de  $EC_{50}$  das amostras de casca e semente apresentaram valores baixos próximos de 0, sendo que os extratos com valores de  $EC_{50}$  mais próximo a zero são considerados como antioxidantes potentes e os organismos produtores desses extratos podem ser considerados potenciais em aplicabilidade biotecnológica (SANTOS *et al.*, 2011).

Augusto *et al.*, 2015 cita que frutas possuem compostos com atividade antioxidante, oferecendo ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que ocorrem nos alimentos, sendo que a oxidação lipídica é considerada uma das principais causas da perda de qualidade nos alimentos. Substâncias antioxidantes são utilizadas pelas indústrias com o intuito de retardar a deteriorização dos alimentos.

Atualmente há uma forte tendência do uso de compostos oriundos de fontes naturais em substituição aos antioxidantes sintéticos, que podem provocar danos a saúde.

Os antioxidantes além de serem utilizados como aditivos em alimentos, são citados por Guaratini; Medeiros; Colepicolo (2007), suas extensivas utilizações no tratamento de patologias, como na prevenção do envelhecimento cutâneo e das conseqüências causadas pela radiação UV, como o câncer de pele. A aplicação tópica ou oral de antioxidantes representa uma estratégia interessante de proteção contra o estresse oxidativo.

Os menores valores de  $EC_{50}$  foram exibidos seqüencialmente pelas amostras de semente e casca do fruto- (SM95%, SM70%, CM70%, CM95%), já os valores mais altos foram encontrados para as amostras de polpa (PM95% e PM70%).

As amostras de casca e semente apresentaram  $EC_{50}$  próximos de 0, sendo considerados como antioxidantes potentes com potenciais em aplicabilidade biotecnológica.

#### **4.5 Citotoxicidade dos extratos das partes do fruto**

Testar a citotoxicidade é a primeira etapa para assegurar a biocompatibilidade de um produto, onde um resultado negativo indicará que o material estará livre de produtos prejudiciais ou que sua quantidade é insuficiente para causar efeitos agudos em células isoladas do corpo (VITRAL *et al.*, 2008).

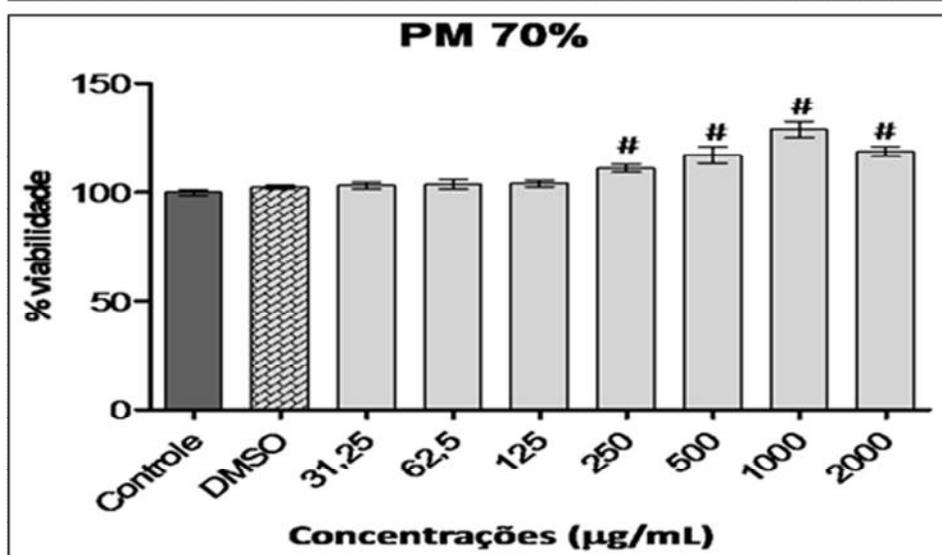
Os resultados obtidos a partir da leitura das absorbâncias do teste MTT para o ensaio de citotoxicidade em célula RAW 264.7 no período de 24h de tratamento com as amostras de casca, polpa e semente nas concentrações 2000 a 31,25  $\mu\text{g/mL}$  estão sendo mostrados nas figuras de 33 a 38.

A capacidade dos macrófagos em reduzirem o MTT pode ser interpretada como uma medida da viabilidade celular, sendo que, quanto maior a função mitocondrial, maior a viabilidade celular e menor a citotóxicidade. A classificação do grau de citotoxicidade de materiais pode ser feita de acordo com a porcentagem de viabilidade celular obtida, sendo classificado em 4: não citotóxico (viabilidade maior que 90%), levemente citotóxico

(viabilidade de 80 a 89%), moderadamente citotóxico (viabilidade 50 a 79%), severamente citotóxico (viabilidade 0 a 49%) (LOPES 2004; MENESES 2004).

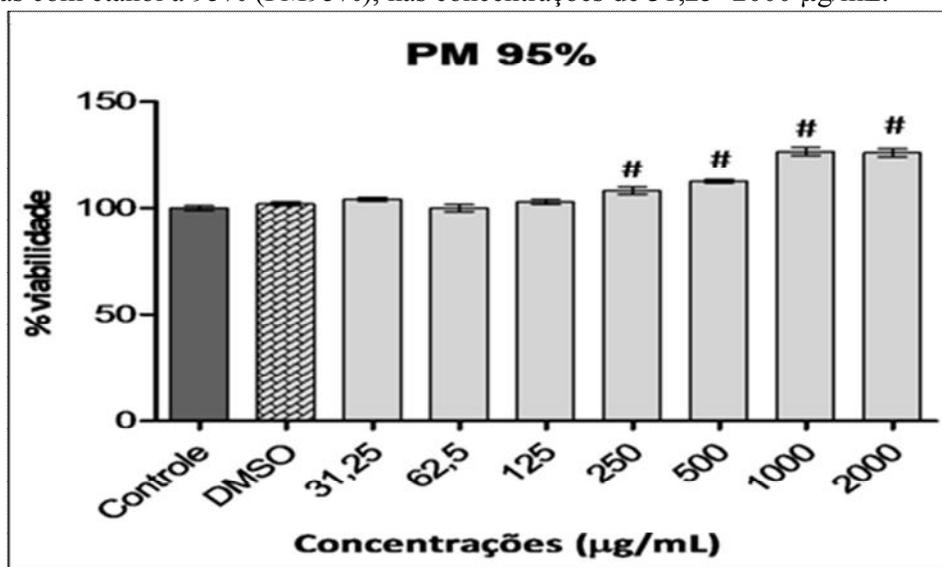
As amostras da polpa do fruto (PM70% e PM95%), não se apresentaram tóxicas á cultura celular, estimulando a proliferação nas concentrações mais altas (2000; 1000; 500; 250  $\mu\text{g/mL}$ ), aumentando o percentual de viabilidade das células RAW (Figuras 33 e 34).

**Figura 33.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de polpa extraídas com etanol a 70% (PM70%), nas concentrações de 31,25- 2000  $\mu\text{g/mL}$ .



#- proliferação celular estatisticamente significante comparada ao controle.

**Figura 34.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de polpa extraídas com etanol a 95% (PM95%), nas concentrações de 31,25- 2000  $\mu\text{g/mL}$ .

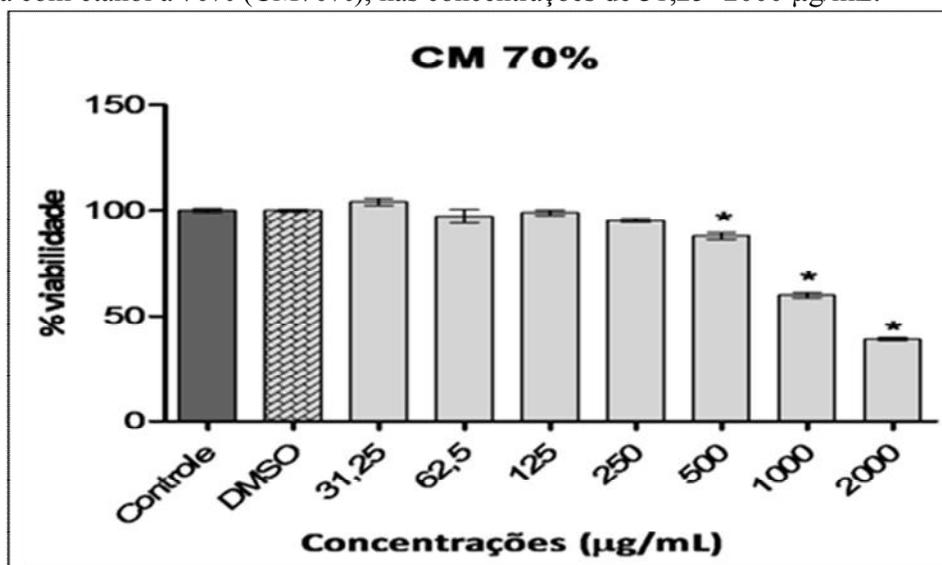


#- proliferação celular estatisticamente significante comparada ao controle

A fração CM70% não apresentou potencial citotóxico nas concentrações de 31, 25 a 250  $\mu\text{g/mL}$ . Apresentando níveis de toxicidade nas três maiores concentrações, com leve citotoxicidade na concentração de 500  $\mu\text{g/mL}$ , moderada em 1000  $\mu\text{g/mL}$ , e mais intensa em 2000  $\mu\text{g/mL}$ , diminuindo a viabilidade celular mais significativamente na concentração máxima analisada (figura 35).

Em vista do nível de toxicidade em 1000  $\mu\text{g/mL}$  ser moderado e nas concentrações menores a CM70% não apresentar toxicidade, o extrato pode vir a ser utilizado como aditivo antioxidante pelas indústrias, devido os aditivos em produtos alimentícios serem usados em quantidades muito pequenas.

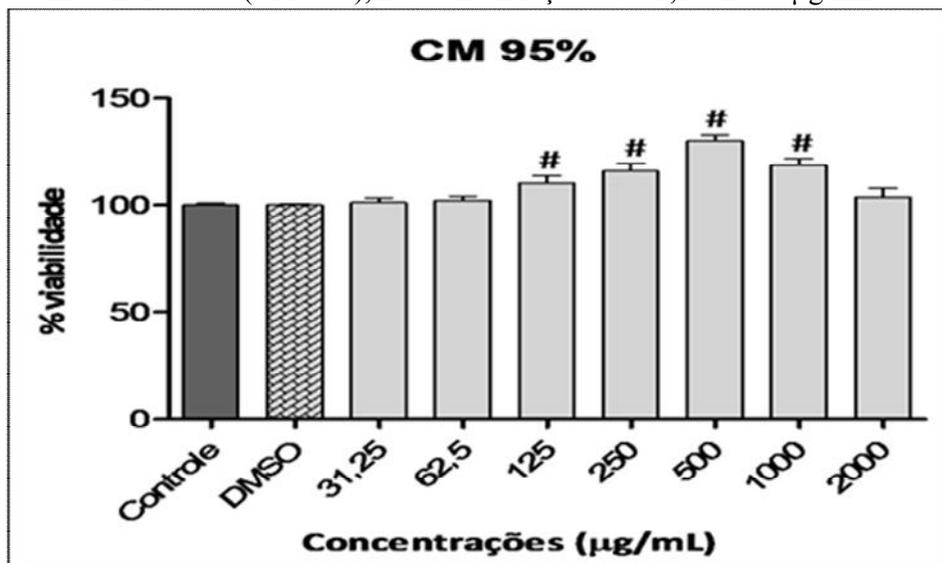
**Figura 35.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de casca extraída com etanol a 70% (CM70%), nas concentrações de 31,25- 2000  $\mu\text{g/mL}$ .



\*-diminuição da viabilidade celular estatisticamente significativa comparada ao controle

A fração CM 95% foi classificada em não citotóxica, em todas as concentrações testadas, sendo observada a estimulação da proliferação celular, viabilidade nas concentrações 125-1000  $\mu\text{g/mL}$  (Figura 36)

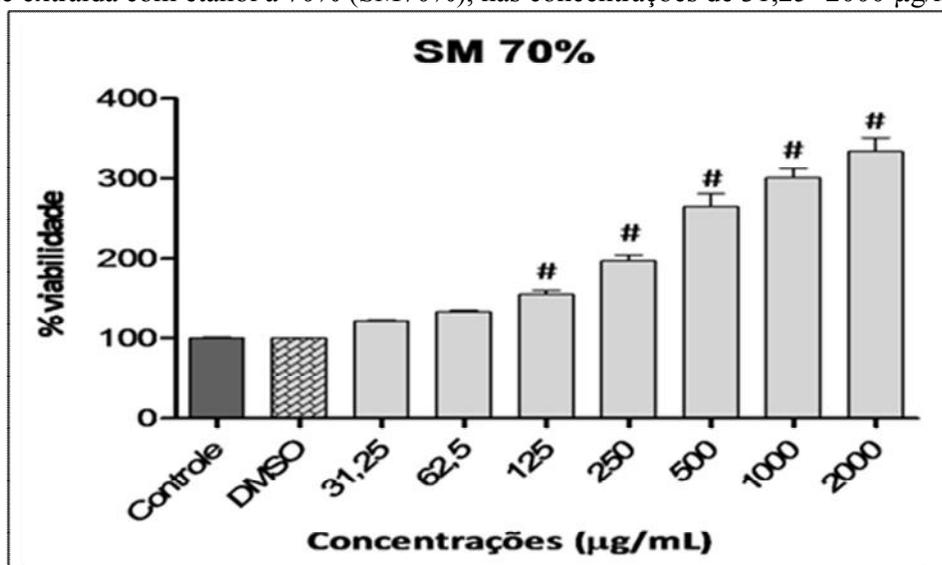
**Figura 36.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de casca extraída com etanol a 95% (CM95%), nas concentrações de 31,25- 2000  $\mu\text{g/mL}$ .



#-proliferação celular estatisticamente significante comparada ao controle.

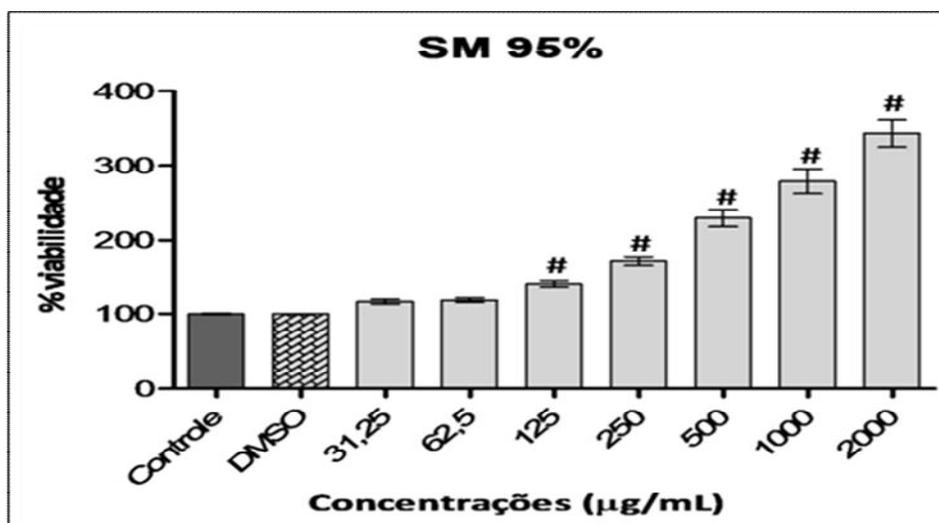
As frações SM 70% e SM 95% não foram citotóxicas, e estimularam a proliferação celular nas concentrações mais altas (2000; 1000; 500; 250; 125  $\mu\text{g/mL}$ ), aumentando, significativamente, o percentual de viabilidade das células RAW (Figura 37 e 38).

**Figura 37.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de semente extraída com etanol a 70% (SM70%), nas concentrações de 31,25- 2000  $\mu\text{g/mL}$ .



#-proliferação celular estatisticamente significante comparada ao controle

**Figura 38.** Porcentagem de viabilidade das células RAW tratadas com as amostras de semente extraída com etanol a 95% (SM95%), nas concentrações de 31,25- 2000 µg/mL



#-proliferação celular estatisticamente significante comparada ao controle

A função primordial do sistema imune é proteger o hospedeiro contra invasão de patógenos através de diferentes componentes celulares incluindo os macrófagos. Essas células ativadas produzem vários mediadores, como o NO e citocinas. Os macrófagos não funcionam apenas como fagócitos, uma vez ativados, participam de todas as fases da resposta imune, sendo importantes como células inflamatórias, tumoricidas e microbicidas (MARTINS, 2012).

A quantidade de formazan gerada no ensaio MTT é diretamente proporcional ao número de células, sendo que as células ativadas produzem mais formazan que as células adormecidas. O aumento na viabilidade pode ser explicado pela utilização do método MTT, já que macrófagos ativados interferem nesta metodologia podendo causar uma superestimação do número de células. Já foi descrito que macrófagos ativados são capazes de produzir mais azul de formazan a partir de sais de NBT quando comparados a células não ativadas, além disso, macrófagos ativados modificam seu metabolismo, e expressam em maior proporção iNOS (óxido nítrico sintase induzível), a qual está envolvida na redução do MTT (POZZOLINI *et al.*, 2003; VITRAL *et al.*, 2008; ROSÁRIO, 2010).

As amostras (PM70%, PM95%, CM95% e SM70%, SM95%), não apresentaram toxicidade para os macrófagos, aumentando proliferação e a viabilidade dos mesmos em concentrações maiores, em maior destaque as amostras de semente. Pode ser suposto que os extratos agiram como potentes ativadores da cultura de macrófagos.

Em trabalho realizado por Chul *et al.*, (2001), a *Platycodon grandiflorum* (Campanhia chinesa) apresenta atividade de imunoestimulação e antitumoral. Acredita-se que a sua atividade pode ser exercida por meio de várias células efetoras potentes, tais como os macrófagos, os quais a planta estimulou a proliferação. Outro estudo realizado por Gracious, Selvasubramanian e Jayasundar (2001), demonstrou que o pó da casca do fruto da romã apresenta atividade estimulante para os componentes celulares do sistema imune.

Devido quase todos os extratos da fruta do mandacaru não apresentarem citotoxicidade, e estimularem os macrófagos que são células de defesa, é importante novos estudos para analisar o efeito dos extratos sobre células cancerígenas visando a observar se os mesmos possuem citotoxicidade seletiva. Em trabalho realizado por Morais (2013), os extratos de hastes de mandacaru ricos em polissacarídeos apresentaram atividade citotóxica frente a células tumorais de rim, não apresentando toxicidade contra células normais de rins.

Os estudos têm demonstrado que a ingestão elevada ou níveis plasmáticos de antioxidantes (carotenóides, vitaminas C e E), estão associados com o risco reduzido de câncer gástrico, inibição do tamanho do tumor e regressão das lesões pré-cancerígenas. Logo, conclui-se que a quimioprevenção tem importante papel na inibição da carcinogênese (ANTUNES; SILVA; CRUZ, 2010).

O efeito citotóxico seletivo de extratos é extremamente desejado em drogas antineoplásicas, sugerindo um futuro promissor no isolamento e combate de certos tipos de câncer (MARTINS, 2012).

O uso de aditivos e sua atividade são muito estudados, uma vez que para serem adicionados aos alimentos devem ser atóxicos, e ativos em baixas concentrações (0,001 a 0,01%) (AGUSTO *et al.*, 2015).

Os extratos do fruto de *cereus jamacaru* demonstram-se como produtos promissores em várias vertentes, citando o consumo *in natura* ou a utilização como aditivos, devido ao alto potencial antioxidante e a biocompatibilidade dos mesmos.

A maioria das amostras também exibiram potencialidade para pesquisas futuras quanto à ação dessas, como imunomoduladores.

Os extratos da semente podem ser utilizados como padrões em teste de laboratório, para a comparação com extratos brutos de plantas, pois apresenta uma vasta gama de compostos antioxidantes, não sendo um composto isolado e apresentando forte atividade antioxidante, cinética de reação rápida e ausência de toxicidade.

## 5. CONCLUSÃO

A polpa do fruto possui compostos com capacidade antioxidante, não apresentando citotoxicidade, podendo vir a ser utilizados pela indústria para o consumo *in natura*, em forma de suco ou polpa.

Devido maior atividade antioxidante, perfil cinético rápido e menores valores de EC<sub>50</sub> para as amostras de casca e semente, e ausência de citotoxicidade em sua maioria, sugerem a utilização destas duas partes como fontes de antioxidantes naturais para aplicação na indústria de alimentos em substituição aos antioxidantes sintéticos.

## 6. PERSPECTIVAS

Purificação dos compostos antioxidantes dos extratos para uso como aditivos.

Testar a aceitabilidade do fruto pela população.

Utilizar a polpa e casca em pré-testes na elaboração de novos produtos alimentícios.

Utilização dos extratos da semente como padrão em ensaios de atividade antioxidante.

Estudo de mecanismos de imunomodulação das amostras e ação contra células de câncer.

## 7. REFERÊNCIAS

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev. Virtual Quim.**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

ALMEIDA, J. F. **Atividade antioxidante e microencapsulação de extrato etanólico de tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**. 2013. 70f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, Pato branco, 2013.

ALMEIDA, A.; ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; LIEBSCH, D.; MIKICH, S. B. **Compostos fenólicos totais em frutos silvestres e sua relação com as preferências alimentares de *Cebus nigritus***. *Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MASTOZOOLOGIA, 2.; 2012, Buenos Aires. *Anais...* Buenos Aires, 2012.

ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A.; MOUWEN, D.J.M.; LÓPEZ, M.; PRIETO, M. Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to characterize molecular composition and stress response in foodborne pathogenic bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v. 84, p. 369-378, 2011.

ALMEIDA, M. M.; SILVA, F. L. H.; CONRADO, L. S.; FREIRE, R. M. M.; VALENÇA, A. R. Caracterização física e físico-química de frutos do mandacaru. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.11, n.1, p.15-20, 2009.

ALVES, M. S. M. **Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré- formulação da Arrabidaea chica (Humb. & Bonpl) B. Verlt.** 2008. Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas)- Instituto de ciências da saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W.; ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, n. 3, p. 36-42, 2006.

ANDRADE, R. M. S. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis à base de resíduos de frutas e hortaliças.** 2014. 75f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B.CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.

**ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA.** Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2013. 136 p.

ANGÉLICO, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de Croton heliotropiifolius KUNTE e Croton blanchetianus BAILL.** 2011. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, PATOS, 2011, p. 86.

AUGUSTO, T. R.; MARTIN, J. G. P.; JUNIOR, M. D. M.; VIEIRA, T. M. F. S. Atividade antioxidante e aplicação de extratos vegetais em alimentos. **Anais do I Workshop de Ciências da APG/ESALQ: O Despertar Profissional**, p. 6-18, 2015.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasil. Bot.**, v.28, n.3, p.589- 601, jul./set. 2005.

BARBOSA, A. S.; BARBOSA, A. S.; LIMA, M. F. S.; PIRES, V. C. F.; FILHO, N. M. R. Frutos de Palma Forrageira e Mandacaru como alternativas na alimentação humana. In: **3º Congresso norte-nordeste de química**, 2009, São Luiz.

BASTOS, D. C.; PIO, R.; FILHO, J. A. S.; LIBARDI, M. N.; ALMEIDA, L. F. P.; GALUCHI, T. P. D.; BAKKER, S. T. Propagação da pitaya vermelha por estaquia. **Ciênc. agrotec.**, v. 30, n. 6, p. 1106-1109, 2006.

BAHIA, E. V. A.; MORAIS, L. R. V.; SILVA, M. P.; LIMA, O. B. V.; SANTOS, S. F. Estudo das características físico-químicas do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) cultivado no sertão pernambucano. In: **V CONNEPI-2010**, 2010.

BATLOUNI, M. Hipótese Oxidativa da Aterosclerose e Emprego dos Antioxidantes na Doença Arterial Coronária. **Arq. Bras. Cardiol**, v. 68, n. 1, 1997.

BLANCO- GOMIS, D.; MANGAS ALONSO, J. J.; MARGOLLES CABRALES, I.; ARIAS A BRODO, P. Gas chromatographic analysis of total fatty acids in cider. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1260-1263, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss. Technol. Amsterdam**, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BRITO, V. S. **Avaliação da toxicidade e do potencial fotoprotetor e antioxidante do extrato hidroalcoólico bruto de hastes de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae**. 2013. 68f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia)- Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2013.

BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E. M.; SANTOS, J. M. T.; ROSA, M. R.; QUINÁIA, S. P.; TORRES, Y. R.; SANTA, H. S. D.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; FERREIRA, P. M.P.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 296-302, 2009.

BUENO, M. M. **Desenvolvimento e aceitabilidade de pão de forma enriquecido com polidextrose e flocos de quinoa**. 2012. 71f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos)- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio grande do sul, Bento Gonçalves, 2012.

CALLONI, C. **Jabuticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel): Composição química, atividade antioxidante in vitro e redução do estresse oxidativo/nitrosativo via modulação da função mitocondrial em cultura de fibroblastos humanos (MRC-5)**. 2014. 86f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia)- Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Caxias do Sul, 2014.

CASTILHO-ALMEIDA, E. W.; SANTOS, H. F.; MIRANDA, A. M.; JORIO, A.; FERREIRA, E. H. M.; ACHETE, C. A.; ARMOND, R. A. S. Z.; ANCONI, C. P. A.; ALMEIDA, W. B. Estudo teórico e experimental de espectros infravermelho de ésteres de ácido graxo presentes na composição do biodiesel de soja. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p.1752-1757, 2012.

CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1660-1664, 2008.

CALIXTO, C. D. **Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado em Química)- Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CARPES, S. T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região sul do Brasil**. 2008. 248f. Tese (Doutorado em tecnologia de alimentos)- Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba, 2008.

CARVALHO, P. R. Aditivos dos alimentos. **Revista LOGOS**, n. 12, 2005.

CARLOS, I. Z.; CARLI, C. B. A.; MAIA, D. C. G.; BENZATTI, F. P.; LOPES, F. C. M.; ROESE, F. M.; WATANABE, M.; MICHELETTI, A. C.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W.; HONDA, N. K. Immunostimulatory effects of the phenolic compounds from lichens on nitric oxide and hydrogen peroxide production. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 4, p. 847-852, 2009.

CAROLEI, L. **Determinação de surfactantes e água em formulações de sabonetes líquidos e shampoos por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) utilizando a técnica de refletância total atenuada (ATR)**. 2005. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CHÁVEZ, J. H.; YOKOSAWA, J.; OLIVEIRA, T. F. M.; SIMÕES, C. M. O.; ZANETTI, C. R. No association between viral cytopathic effect in mccooy cells and mtt colorimetric assay for the in vitro anti-rabies evaluation. **Virus Reviews & Research**. v. 17, n.1-2, 2012.

CHUL, Y. C.; KIMA, J. Y.; KIMB, Y. S. CHUNGC, Y. C.; HAHMA, K. JEONG, H. g. Augmentation of macrophage functions by an aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum*. **Cancer Letters**. v. 166, n. 1, p. 17–25, 2001.

CURI, R.; JÚNIOR, O. T.; HIRABARA, S. M.; FOLADOR, A.; PERES, C. M.; PARDAL, D. P. H.; PITHON-CURI, T. C.; JÚNIOR, J. R.G.; PROCÓPIO, J.; FERNANDES, L. C. Uma fonte adicional de ácidos graxos para o músculo esquelético: os leucócitos. **Rev. Bras. Ciên. e Mov.**, v. 10, n. 4, p. 91-98, 2002.

CORREIA, D.; SILVA, I. C.; NASCIMENTO, E. H. S.; MORAIS, J. P. S. Produção de Mudanças de Mandacaru. Embrapa Agroindústria Tropical. **Circular Técnica**, 39 (CNPAT), p. 1-6, 2012.

DAIUTO, É. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITES, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate 'HASS'. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 36, n. 2, p. 417-424, 2014.

DELMONDES, P. H.; FREIRE, J. M.; SCHAEFER, A. S.; AMARAL, G. A.; SILVA, M. A. Substâncias antioxidantes presentes nos vegetais. **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da Univar**, n. 9, v. 1 p. 1-5, 2013.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DAVET, A. **Estudo fitoquímico e biológico do cacto – *cereus jamacaru* DE candolle, cactaceae**. 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

DIONYSIO, R. B.; MEIRELLES, F. V. P. Conservação de alimentos, **CED-PUC**, n. 15, 2003.

DOSSIÊ ANTIOXIDANTES. **Food Ingredients Brasil**, São Paulo, n. 6, p. 16-30, 2009.

EGEA, I.; SÁNCHEZ-BEL, P.; ROMOJARO, F.; PRETEL, M. T. Six Edible Wild Fruits as Potential Antioxidant Additives or Nutritional Supplements. **Plant Foods Hum Nutr.**, v. 65, p. 121- 129, 2010.

FARRO, P. C. A. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade “Real”**. 2008. 303p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FERNANDES, A. M. M. **Citotoxicidade, produção de espécies reativas de oxigênio, expressão de marcadores celulares e produção de TNF $\alpha$  em macrófagos após exposição a agentes clareadores**. 2013. 122f. Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora)- Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, São José dos Campos, 2013.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F.B.; CAVALLHEIRO, E. T. G. Ácidos orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano. **Química nova na escola**, n.15, p. 5, 2002.

FONSECA, A. V. V. **Estabilidade do suco de caju (*Anacardium Occidentale*, L.) acondicionado em embalagens de vidro e de pet**. 2010. 91f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos)- Universidade federal do Ceará, centro de Ciências Agrárias, Fortaleza, 2010.

FONSÊNCIA, P. A. Q. **Análise físico-químicas de polpas de frutas e avaliação dos seus padrões de identidade e qualidade**. 2012. 60f. Dissertação ( Mestrado em Química)- Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

FREIRE, A. G. Plantar árvores para colher o futuro. Ed. Projeto Agroecologia na Borborema: **AS-PTA Agricultura Familiar e Agroecologia**, São Miguel, 2011. 37 p.

GASPARRI, S. **Estudo das atividades antioxidante e mutagênica/antimutagênica induzidas pelo extrato vegetal da *Costus spicatus***. 2005. 79f. Dissertação (Mestrado em Diagnóstico Genético e Molecular)- Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2005.

GIOIELLI, L. A. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 211-232. 1996.

GRACIOUS, R. R. SELVASUBRAMANIAN, S. JAYASUNDAR, S. Immunomodulatory activity of *Punica granatum* in rabbits - a preliminary study. **J.Ethnopharmacol.** v. 78, n. 1, p. 85-7, 2001.

GOMES, G. R. Família cactaceae: breve revisão sobre sua descrição e importância. **Revista Técnico Científica 2**, 2014.

GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. 2008. 88f. Dissertação (Mestrado em ciência dos alimentos)- Faculdade de Ciências Farmaceuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GUIMARÃES, M. C. C.; FILHO, R. V. G. Diferenciação de monócitos-macrófagos de *gallus gallus*: uma abordagem morfológica. **PERSPECTIVAS online**, v. 3, n. 9, 2009.

GUEDES, R. S., ALVES, E. U., GONÇALVES, E. P., BRUNO, R. D. L. A., JÚNIOR, J. M. B., & DE MEDEIROS, M. S. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC. em diferentes substratos e temperaturas. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.31, n. 2, p. 159-164. 2009.

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

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**. v. 55, p.481- 504, 2000.

HORST, B. L. **Microencapsulação do corante natural antocianina em matriz polimérica de quitosana e quitosana/alginato através das técnicas de impregnação, coacervação e spray drying**. 2009. 102f. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

HONORATO, T. C.; BATISTA, E.; NASCIMENTO, K. O.; PIRE, T. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 01 - 11, 2013.

JOLY, A. B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 4. ed. São Paulo: Editora nacional, 1977. 777p.

JÚNIOR, J. O. C.; VIEIRA, J. L. F.; BARBOSA, W. L. R.; PEREIRA, N. L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16 p. 671-677, Dez. 2006.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, 2006.

LEE, J.C.; KIM, H. R.; KIM, J.; JANG, YS. Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indicavar*. *Saboten. J. Agric. Food Chem.*, v. 50, n. 22, p. 6490–6496, set. 2002.

LEITE, D. O.; PRADO, R. J. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 2, p. 2504, 2012.

LEITE, J. G. **Aplicação das Técnicas de Espectroscopia FTIR e de Micro Espectroscopia Confocal Raman à Preservação do Patrimônio**. 2008. 76f. Dissertação (Mestrado integrado: Engenharia Metalúrgica e de Materiais )-Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, 2008.

LEONG, L. P.; SHUI, G. Na investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore marKets. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.

LIMA, A. C. **Estudo Taxonômico de Cactaceae Juss. No Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil**. 2012. 65f. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas)- Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grande, 2012.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasiliense, Camb.)**. 2008. 182f. Tese (doutorado em Ciências farmacêuticas)-Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LIU, Y.; PETERSON, D. A.; KIMURA, H.; SCHUBERT, D. Mechanism of Cellular 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) Reduction. **J. Neurochem.**, v. 69, n. 2, 1997.

LIMA, R. M. T.; FIGUEIREDO, R. W.; GERALDO ARRAES MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; EVÂNIA FIGUEIREDO, E. A. T.; RODRIGUES, C. S. Estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola pasteurizadas e não-pasteurizadas de cultivo orgânico. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, fev, 2012.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, mai. 2004.

LOPES, F. C, M. **Avaliação da atividade imunológica in vitro de Alchornea spp quanto à produção de peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e fator de necrose tumoral-  $\alpha$  por macrófagos murinos**. 146 f. 2004. Dissertação (Mestrado em análises clínicas) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Araraquara, 2004.

LONGO, D. L. **Avaliação da citotoxicidade e Expressão de Citocinas Induzidas por Resina composta Fotopolimerizável**. 2013. 92f. Dissertação (Mestrado em Odontologia)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2013.

MARTÍNEZ-TOMÁS, R.; PÉREZ-LLAMAS, F.; SÁNCHEZ-CAMPILLO, M.; GONZÁLEZ-SILVERA, D.; CASCALES, A.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M.; LÓPEZJIMÉNEZ, J. A.; NAVARRO, S. Z.; BURGOSB, M. I.; LÓPEZ-AZORÍN, F.; WELLNE, A.; PLAZA, F. A.; BIALEK, L.; ALMINGERC, M.; LARQUÉ, E. Daily intake of fruit and vegetable soups processed in different ways increases human serum carotene and lycopene concentrations and reduces levels of several oxidative stress markers in healthy subjects. **Food Chemistry**, v. 134, p. 127–133, 2012.

MAYWORM, M; SALATINO, A. Teores de óleos e composição de ácidos graxos de sementes de *cereus jamacaru* D C (Cactacea), *Zizyphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Benth) Brenan var *cebil* (Griseb.) Von Altschul (Mimosaceae). **Sitientibus**, n. 15, p. 201- 209, 1996.

MAGDALON, J. **Efeito dos tratamentos com os ácidos oleico ou linoleico in vitro ou in vivo sobre a produção de medicamentos inflamatórios por macrófagos**. 2011. 73f. Dissertação (Mestre em Ciências)- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, 2011.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTINS, C. M.; VASCONCELLOS, M. A. S.; ROSSETTO, C. A. V.; CARVALHO, M. G. Prospecção fitoquímica do arilo de sementes de maracujá amarelo e influência em germinação de sementes. **Ciência Rural**, v. 40, n.9, p. 1934-1940, set. 2010.

MARTINS, F. M. S. **Propriedades antitumorais e imunológicas da espécie nativa do Cerrado *Dipteryx alata* (Vog.), utilizando modelo experimental de Ehrlich**. 52f. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente)– Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2012.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, 2008.

MEDINA-TORRES, L.; VERNON-CARTER, E. J.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; ROCHA-GUZMAN, N. E.; HERRERA-VALENCIA, E. E.; CALDERAS, F.; JIMÉNEZ-ALVARADO, R. Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying. *J. Sci. Food Agric.*, v. 91, p. 1001–1005, fev. 2011.

MENESES, J. V. N. B. **Análise *In vitro* da toxicidade de Substâncias utilizadas em pulpotomias de dentes decíduos. Estudo em linhagem de fibroblastos Balb-c 3T3**. 122f. 2004. Tese (Doutorado em Odontologia)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru, 2004.

MENDONÇA, A. C. **Atividade antioxidante de poliaminas e comparação com produtos naturais e sintéticos**. 2009. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2009.

MESSIAS, J. B. ***Cereus jamacaru* DC: Efeito toxicológico sobre o desenvolvimento embrionário de *rattus norvegicus***. 2010. 182f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Recife, 2010.

MENESES, T. P. **Polinização e maturação de pitaiá vermelha [ *Hylocereus undantus* (Haw.) Britton & Rose]**. 2013. 102f. Tese (Doutorado em Agronomia e Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MIZRAHI, Y.; NERD, A.; SITRIT, Y. New Fruits for Arid Climates. **Trends in new crops and new uses**. p. 378- 384, 2002.

MOURA, C. **Avaliação da atividade antioxidante de extratos etanólicos de resíduos provenientes da fabricação de vinho**. 2014. 57f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em química)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2014.

MORAIS, D. S. C. **Avaliação das atividades antioxidante e citotóxicas de extratos ricos em polissacarídeos extraídos das hastes de mandacaru (*Cereus jamacaru* de Candolle,**

**cactaceae**). 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)- Universidade do Rio Grande do Norte, Departamento de Química, Natal, 2013.

MOREIRA, I. C.; CARDINES, P. H. F.; TENREIRO, M. L. Avaliação da atividade antioxidante e quantificação de fenólicos do extrato etanólico do caroço de abacate (*Persea americana* mill.). **CBQ**, n.365, 2010.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. .

MURRAY, R. K.; BENDER, D. A.; BOTHAM, K. M.; KENNELLY, P. J.; RODWELL, V. W.; WEIL, P. A. **Bioquímica Ilustrada de Harper (Lange)**. 29ed: McGraw-Hill , 2013. 832p.

MUELLER, L.; BOEHM, V. Antioxidant Activity of  $\beta$ -Carotene Compounds in Different in Vitro Assays. **Molecules**, v.16, p. 1055-1069, 2011.

NASCIMENTO, K. **Citotoxicidade e estresse oxidativo causado por nanocápsulas contendo meloxicam em cultura de esplenócitos de camundongos BALB/C**. 2013. 60f. Dissertação ( Mestrado em Nanociências)- do Centro Universitário Franciscano de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

NASCIMENTO, A. P. R. **Quantificação dos taninos dos vinhos por transformada de fourier dos espectros no infravermelho médio (ftir)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia)- Instituto superior de agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

NATALIA RIBEIRO BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos Funcionais: Uma breve revisão. **CIÊNCIA E CULTURA- Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB**, v. 6, n. 2, 2010.

NERY, M. D. A.; AQUINO, H. D.; RIBEIRO, R. T. M.; NERY, E. A.; SILVA, T. S. J.; DANTAS, R. T.; MENEZES, R. R. P. P. B.; COSTA, M. F. B.; MARTINS, A. M. C.; ALVES, N. T. Q.; MONTEIRO, H. S. A. Cytotoxic activity and abdominal writhes promoted by snake venom from *Philodryas nattereri* Steindachner, 1870. **Fundamental Toxicological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 15- 18, 2014.

NOBEL, P. S., (ed.). **Cacti: biology and uses**. Univ of California Press, 2002. 163- 179 p.

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

OLIVEIRA, J. R. **Ensaio de citotoxicidade de extratos naturais após determinação da concentração microbicida mínima para *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* e *Candida* spp**. 2011. 134 f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de São Jose dos Campos, São José dos Campos, 2011.

OLIVEIRA, G. R. **Adição de extratos e óleos vegetais na alimentação de poedeiras: avaliação da oxidação lipídica e qualidade física de ovos armazenados em diferentes**

**temperaturas**. 2014. 133 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

OLIVEIRA, P. A. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de extratos de *Goupia glabra* AUBLET (Cupiúba)**. 2010. 144f. Dissertação ( Mestrado em Química)- Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2010.

ORTEGA, G. M.; BERMELLO, A.; GUERRA, M.; MICHELENA, G. L.; CASTILLO, G.; ARMENTEROS, S.; MIERES, G.; CARRERAS, E.; CRESPO, D.; MATOS, S.; LEGRÁ, S. Estudios de separación y caracterización de pigmento en caldos de fermentación de *Botryodiplodia theobromae*. **ICIDCA**, n. 3, p. 27-34, 2007.

PALMA, M. B. S. **Avaliação da citotoxicidade in vitro de superfícies recobertas por nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT)**. Relatório (Projeto de Científico-CNPQ)- Instituto Nacional de Pesquisas espaciais, 2008.

PEREIRA, V. R. **Ácido Ascórbico – características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de alimentos**. 2008. Trabalho acadêmico do Curso de Química (Bacharelado em química) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Food Science and Technology**, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PHILIPPI, M. E. **Avaliação do efeito de extratos de plantas da Flora Catarinense sobre a proliferação de células mononucleares humanas**. 2008. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Universidad do Vale do Itajaí, Centro de Ciências da saúde, 2008.

PILETTI, R. **Extração da mucilagem da tuna (*Cereus hildmaniannus* K. Schum) para aproveitamento industrial**. 2011. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)- Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Florianópolis, 2011.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cad. Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, 2009.

POZZOLINI, M.; SONIA SCARFI, S.; BENATTI, GIOVINE, M. Interference in MTT cell viability assay in activated macrophage cell line. **Analytical Biochemistry**. v. 313, p. 338–341, 2003.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutos tropicais**. 2009. 107f. Dissertação (Mestrado em ciências)- Escola de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

QUEIROZ, G. S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. 2009. 56f. Relatório de Estágio Supervisionado II. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

ANTUNES, D. C.; SILVA, I. M. L.; CRUZ, W. M. S. Quimioprevenção do Câncer Gástrico. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v.56, n. 3, p, 367-37, 2010.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMALHO, R. **Atividade antioxidante de frutos cítricos cultivados no Paraná. 2014. 35f.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Tecnologia em Alimentos)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

RIBEIRO, M. O.; MENDES, C. C. Atividade antioxidante e triagem fitoquímica de extratos de folhas de *Glischrothamnus ulei* PILG. (MOLLUGINACEAE), 2011.

RIBEIRO, M. O. **Atividade antioxidante e triagem fitoquímica de extratos de folhas de *Glischrothamnus ulei* PILG.(Molluginaceae).** XV Seminário de Iniciação Científica, Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.

ROCHA, E. A.; AGRA, M. F. Flora do pico do jabre, paraíba, brasil: *cactaceae* juss. **Acta bot. Brás**, v. 16, n. 1, p. 15-21, 2002.

ROSÁRIO, M. M. T. **Caracterização de xiloglucanas nativas e modificadas e efeitos sobre vias de ativação em macrófagos peritoniais de camundongos.** 164f. 2010. Tese (Doutorado em Ciências)- Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial, Curitiba, 2010

ROSA, G. M. **Análise química e atividade antioxidante de quatro amostras de café (*coffea arábica*) comerciais.** 2010. Dissertação (Mestrado em química)- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

SARTORI, G. V.; COSTA, C. N.; RIBEIRO, A. B. Conteúdo Fenólico e Atividade Antioxidante de Polpas de Frutas Congeladas. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 5, n. 3, p. 23–29, 2014.

SALVADOR, I. **Atividade antioxidante e teor de resveratrol em cacau, chocolates e achocolatados em pó e bebidas lácteas achocolatadas.** 2011, 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

SANTOS, S. N.; CASTANHA, R. F.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; SCRAMIM, S.; MELO, I. S. **Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH.** **Comunicada técnico** 50, Jaguariúna, 2011.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, n. 4, p. 913-915, 2008.

SASAKI, M. **Lipídeos, carboidratos e proteínas de sementes de leguminosas do cerrado.** 2008. 75f. Dissertação (mestrado em Ciências)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

- SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. **Radicais e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: ULBRA, 2004. 204p.
- SCHULTZ, A. R. **Introdução ao estudo da: Botânica sistemática**. 3. ed. v. 2. Porto Alegre: Editora Globo, 1963. 427p.
- SEEFELDT, A. T. **Síntese e caracterização de hidrogéis híbridos termo e pH sensíveis, baseados em acrilamida, APMA e NIPAM**. 2014. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre, 2014.
- SILVA, F. G. D.; O'CALLAGAHAN, Y.; O'BRIEN, N. M.; NETTO, F. M. Antioxidant Capacity of Flaxseed Products: The Effect of In vitro Digestion Avaliação do potencial antioxidante e quelante ao ferro de peptídeos da linhaça (*Linum usitatissimum* L.). **Plant Foods for Human Nutrition**; v. 68, n. 1, p. 24-30, 2013.
- SILVA, L. R.; ALVES, R. E. Caracterização físico-química de frutos de “mandacaru”. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 7, n. 2, p. 199- 205, 2009.
- SILVA, J. G. M.; LIMA, G. F. C.; RÊGO, M. M. T. Cactáceas Nativas na Alimentação de Ruminantes. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v.15, n.1, p.53-62, 2013.
- SILVA, A. O.; FILHO, A. M.; SILVA, J. A. S.; GORGONIO, B. C. R.; SILVA, C. M. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA DA POLPA E CASCA DE FRUTOS DO MANDACARÚ (*Cereus jamacaru*). **Anais do Encontro Nacional de Educação, Ciência e Tecnologia UEPB**, v. 1, n. 1. 2012.
- SILVA, R. A. B. **Hidróxido de Cálcio associado à Clorexidina- Estudo em Cultura de Células (RAW 264.7 e Cultura Primária de Células da Linhagem Osteoblástica) e em Tecido Subcutâneo de Camundongos. Avaliação da Atividade antimicrobiana**. 2007. 92f. Tese (Doutorado em Odontopediatria)- Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão preto, 2007.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- SILVA, T. C.; OLIVEIRA, J. R.; SOUZA, S. J. O. Extração de Eugenol a Partir do Cravo da índia e Produção de Sabonetes Aromatizados. **Revista Crase. Edu**, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2011.
- SOUZA, V. Y. V. **Análise da proteção antioxidante promovida por extratos de tucumdo-cerrado (*Bactris setosa*)**. 2013. 80f. Dissertação (Mestre em nutrição humana)- Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Braz. J. Food Technol.**, v. 14, n. 3, p. 202-210, jul./set. 2011.

Spectroscopic tools- science and fun. <http://www.science-and-fun.de/tools/>. Acesso em 20 de nov. de 2014.

TASCA, A. P. W. **Efeito do processamento industrial para obtenção de goiabada sobre os compostos Antioxidantes e cor**. 2007. 112f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Araraquara, 2007.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante fenólica de legumes e verduras consumidas no Brasil**. 2010. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2010.

WATANABE, H. S.; OLIVEIRA, S. L. Comercialização de frutas exóticas. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 36, n. 1, p. 023-038, 2014.

WAHABA, M. A.; BOUBAKRI, H.; JELLALI, S.; JEDIDI, N. Characterization of ammonium retention processes onto Cactus leaves fibers using FTIR, EDX and SEM analysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 241, p. 101– 109, 2012.

VALENTE, R. O. H.; SAMPAIO, F. C.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S. Estudo toxicológico pré-clínico (agudo) do extrato do *Syzygium aromaticum*(L) em roedores. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n.2B, p. 557-560, 2009.

VELLONEN, K.; HONKAKOSKI, P.; URTTI, A. Substrates and inhibitors of efflux proteins interfere with the MTT assay in cells and may lead to underestimation of drug toxicity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 23, p. 181- 188, 2004.

VILLASEÑOR, M. A. A. **Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucilago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible**. 2008. 244 f. Tese (Doutorado Tecnologia de Alimentos)- Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidade Politécnica de Valencia, Valencia, 2008.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

VITRAL, J. C. A.; SILVA, A. A.; SOUZA, M. A.; FERREIRA, A. P.; VITRAL, R. W. F. Avaliação da Citotoxicidade de Materiais Odontológicos Através do Método de MTT e Produção de Óxido Nítrico: Descrição de uma Técnica. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.**, v. 8, n. 3, p.359-365, 2008.

VIEIRA, L. M. **Caracterização química e capacidade antioxidante in vitro do coco babaçu (*Orbignya speciosa*)**. 2011. 93f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Química Orgânica: Estrutura e Função**. 6.ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 1365p.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; RIBEIRO-SILVA, S.; MACHADO, M.; MORAES, E. M.; CALVENTE, A.; CRUZ, B.; CORREIA, D.; LAROCCA, J.; ASSIS, J. G. A.; AONA, L.; MENEZES, M. O. T.; MARCOS MEIADO, M.; MARCHI, M. N.; SANTOS, M. R.; BELLINTANI, M.; COELHO, P.; NAHOUM, P. I.; RESENDE, S. **Plano de ação nacional Para a conservação das cactáceas**. n. 24. Brasília: icmbio, 2011. 112p.

ZAPATA, K.; CORTES, F. B.; ROJANO, A. B. Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). **Información Tecnológica**, v. 24, n. 5, 2013.