



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO TECNOLÓGICO

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, PROLIFERATIVA E/OU
ANTITUMORAL DOS EXTRATOS DE ACEROLA**

Ana Luiza Ferreira

Florianópolis

2020

ANA LUIZA FERREIRA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, PROLIFERATIVA E/OU
ANTI-TUMORAL DOS EXTRATOS DE ACEROLA**

Proposta de Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina apresentado como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a Patrícia Poletto

Coorientadora: Dr^a Karina Cesca

Florianópolis

2020

Ana Luiza Ferreira

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, PROLIFERATIVA E/OU
ANTI-TUMORAL DOS EXTRATOS DE ACEROLA**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia de Alimentos” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos.

Florianópolis, 30 de novembro de 2020.

Prof. João Borges Laurindo, Dr. Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Patrícia Poletto, Dra.
Orientadora
Universidade de Caxias do Sul

Karina Cesca, Dra.
Universidade do Estado de Santa Catarina

Paulo Emílio Feuser, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Maíra de Andrade Peixoto, Mes.
Universidade Federal de Santa Catarina

*Dedico este trabalho a Jesus Cristo, o meu Deus, o meu Criador, o meu Salvador,
aquele que eu aguardo ansiosamente e a razão de tudo o que eu vivo.*

É difícil descrever a beleza que há em te pertencer.

*Com um pequeno vislumbre de quem você é o meu coração foi completamente
arrebato. Um caminho sem volta de maravilhosas consequências eternas.*

*Uma das verdades que mais me encantam é que mesmo que eu nunca fosse
estimada por ninguém na face da Terra, ainda sim eu teria um imensurável valor para os
teus olhos. E a realidade é que nenhuma experiência, nem nada possível de ser vivido - e
isso inclui até mesmo esta conquista que agora vivo - se compara ao que é viver com
você.*

*Olho para todos os meus sonhos, tudo o que desejo um dia viver, e sei que
quando acontecer vou perceber que nada saiu do lugar. Tudo permanece sendo pequeno
diante do que tenho no teu amor.*

*Escolho então, fazer de você minha maior ambição, por que sei que em ti sempre
serei bem-sucedida.*

*E aliás, sem você não teríamos células, compostos bioativos e várias outras
coisas incríveis para nos divertirmos estudando.*

AGRADECIMENTOS

À minha família, por todo o apoio que recebi ao longo dos anos de graduação. Obrigada por acreditarem tanto em mim e serem tão encorajadores. Acho que frase “Ana, tu vais conseguir” foi a que mais ouvi quando o assunto da conversa era a UFSC.

À professora Patrícia Poletto, pela oportunidade de executar este trabalho, por compartilhar seu conhecimento e por toda a sua dedicação demonstrada com muita paciência e gentileza. Sua competência, humildade e afabilidade me inspiram.

À minha coorientadora, Karina Cesca, por todo o conhecimento compartilhado. Não aprendi só sobre biologia molecular, aprendi que é possível após um dia cheio ainda estar trabalhando no laboratório de muito bom humor e ter paciência e dedicação para ensinar e ajudar outra pessoa. Aprendi com você mais do que imagina.

À Otília Mônica Borges cuja pesquisa que desenvolveu foi vital para a execução deste trabalho e ao seu IC Juan Salies por toda a ajuda prestada.

Ao Laboratório Integrado de Engenharia Bioquímica (LIEB) pelo espaço cedido para a realização dos experimentos.

À Universidade Federal de Santa Catarina por todos os recursos disponibilizados.

Muito obrigada.

RESUMO

Acerola (*Malpighia emarginata*) é uma espécie nativa das regiões tropicais da América e destaca-se pelo alto teor de compostos como vitamina C, carotenoides, compostos fenólicos e alta atividade antioxidante. Estudos revelam que, assim como a fruta, o resíduo da acerola também apresenta quantidades significativas de compostos bioativos. O presente estudo foi conduzido para avaliar a correlação entre a atividade antioxidante, concentração de vitamina C e compostos fenólicos do suco e do extrato do resíduo do processamento da acerola na citotoxicidade e atividade antitumoral. O efeito citotóxico dos extratos foi avaliado em linhagens celulares de adenocarcinoma murino de mama (MDA-MD-231), câncer de pulmão (A549), glioma (GL) e célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929). Observou-se que atividade antioxidante, concentração de compostos fenólicos e vitamina C é diretamente proporcional a concentração do suco ou extrato utilizados nos ensaios. O extrato obtido do resíduo apresentou maiores valores de compostos fenólicos, enquanto o suco apresentou maiores concentrações de vitamina C. A atividade antioxidante de ambos foi semelhante. A avaliação do efeito citotóxico revelou valores de IC₅₀ elevados para todas as células avaliadas. A concentração inibitória IC₅₀ do suco nas células L-929, MDA-MB-231, GL e A549 foram 800, 1000, 875 e >1000 µg/mL, respectivamente. Já o extrato do resíduo resultou em valores de IC₅₀ de 175, 630, >1000 e >1000 µg/mL para as células de L-929, MDA-MB-231, GL e A549, respectivamente. Os resultados de citotoxicidade mais positivos foram obtidos para a célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929), onde foi possível observar correlação positiva da concentração de compostos fenólicos sobre a atividade antitumoral.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata*; extrato; resíduo; atividade antitumoral; atividade antioxidante.

ABSTRACT

Acerola (*Malpighia emarginata*) is a fruit native to the tropical regions of America and stands out for its high content of compounds such as c vitamin, carotenoids, phenolic compounds, and its high antioxidant activity. Studies reveal that acerola waste has a significant amount of bioactive compounds like the fruit. The present study was conducted to evaluate the possible correlation between antioxidant activity, c vitamin, and phenolic compounds concentration from the juice and the waste extract of the acerola processing over the cytotoxicity and antitumor activity. The cytotoxic effect of the extracts was evaluated on the cell lines of murine breast adenocarcinoma (MDA-MD-231), lung cancer (A-549), glioma (GL), and non-tumor cell of skin fibroblasts (L-929). It was observed that the antioxidant activity and concentration of phenolic compounds and c vitamin are directly proportional to the concentration of the juice or extract used in the essays. The extract obtained from the waste showed higher values of phenolic compounds while the juice showed a higher concentration of c vitamin. The antioxidant activity from both was similar. The evaluation of the cytotoxic effect revealed high IC₅₀ values for all cells evaluated. The IC₅₀ inhibitory concentration of the juice in the cells L-929, MDA-MB-231, GL, and A549 were 800, 1000, 875 e >1000 µg/mL, respectively. The waste extract resulted in values of 175, 630, >1000 e >1000 µg/mL to the cells lines L-929, MDA-MB-231, GL, and A549, respectively. The most positive results of cytotoxicity were obtained for the non-tumor cell of skin fibroblasts (L-929), where was observed a positive correlation between the phenolic compounds concentration and antitumoral activity.

Keywords: *Malpighia emarginata*; extrac; waste; antitumoral activity; antioxidante activity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	9
2.1	OBJETIVO GERAL.....	9
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
4	METODOLOGIA	20
4.1	PREPARAÇÃO DO EXTRATOS DE ACEROLA.....	20
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO	20
4.2.1	Determinação de atividade antioxidante.....	20
4.2.2	Determinação da vitamina C.....	21
4.2.3	Determinação dos compostos fenólicos.....	21
4.3	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS.....	21
4.3.1	Avaliação do efeito citotóxico	22
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Malpighia emarginata DC, conhecida como acerola, é uma espécie nativa das regiões tropicais da América, e atualmente é cultivada principalmente no Brasil, México e em algumas partes do sudeste asiático e Índia. A fruta destaca-se pelo alto teor de compostos como vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos. Diversos produtos que contêm acerola vêm sendo comercializados como suplementos alimentares para aumentar a resposta imune e para suprir necessidades nutricionais (BELWAL et al., 2018).

O processamento da acerola gera uma quantidade de resíduo elevada. Estima-se que seja gerada uma quantidade de resíduo em torno de 40% do volume da fruta (LOUSADA JÚNIOR et al., 2006). O descarte destes resíduos resulta em um impacto ambiental negativo e desperdício de matéria-prima que poderia estar sendo utilizada na obtenção de energia ou outros produtos de maior valor agregado. Estudos recentes revelam que o resíduo da acerola apresenta quantidades significativas de compostos fenólicos, vitamina C e outros compostos bioativos (SANCHO et al. 2015; SILVA et al. 2014). Este resíduo apresenta grande potencial como suplemento alimentar e produtos farmacêuticos (SILVA et al., 2016). A farinha obtida do bagaço apresenta potencial para ser utilizada como um ingrediente alimentar ou suplemento pela sua alta concentração de fibras e compostos antioxidantes (MONTEIRO et al., 2020). Diversas atividades biológicas já foram testadas com extratos de acerola, tanto da polpa quanto do resíduo, como atividades antioxidante, anti-hiperglicêmica (MARQUES et al., 2016; HANAMURA, HAGIWARA e KAWAGISHI, 2005; HANAMURA, MAYAMA, AOKI, HIRAYAMA e SHIMIZU, 2006), anticoagulante (MARQUES et al., 2018) e antitumoral (MOTOHASHI et al., 2004) apresentando resultados considerados satisfatórios. A atividade antitumoral do extrato de acerola foi testada em linhagens de tumores como carcinoma epidermoide humano e carcinoma da glândula mandibular humana (MOTOHASHI et al., 2004), porém esse foi o único trabalho encontrado.

Estudos recentes revelam que fontes ricas em polifenóis apresentam atividade sobre células tumorais. É conhecido que o extrato de folhas de oliva (*Olea europaea* L.) possui atividade terapêutica contra alguns tipos de câncer (MAJUNDER et al., 2019). Segundo MAJUNDER et al. (2019, p. 267) os polifenóis presentes na folha de oliveira estão associados à atividade anticancerígena, antioxidante, anti-hipertensiva, hipoglicêmica, hipocolesterolêmica, cardio-protetora e no tratamento da obesidade.

Também se verificou que os polifenóis extraídos de flores de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) podem inibir o crescimento de células de melanoma, um tipo de câncer de pele que apresenta grande resistência a tratamentos (GOLDBERG et al., 2015).

Sabendo que os resíduos do processamento de acerola possuem grandes quantidades de compostos de interesse, um extrato foi produzido através de tratamento hidrotérmico. Assim, no presente trabalho estudou-se a correlação entre a atividade antioxidante, concentração de vitamina C e compostos fenólicos do extrato obtido a partir do resíduo da acerola, o qual foi comparado com o suco de acerola na citotoxicidade e atividade antitumoral de diferentes linhagens celulares.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o potencial citotóxico e antitumoral *in vitro* do extrato do resíduo da acerola e do suco de acerola.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para que o objetivo geral seja alcançado, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- caracterizar os extratos quanto a atividade antioxidante, concentração de vitamina C e compostos fenólicos.
- avaliar a citotoxicidade *in vitro* do suco de acerola em linhagens celulares de adenocarcinoma humano de mama (MDA-MD-231), câncer de pulmão (A549), glioma (GL) e célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929);
- avaliar a citotoxicidade *in vitro* do extrato de acerola obtido do resíduo da centrifugação do suco em linhagens celulares de adenocarcinoma humano de mama (MDA-MD-231), câncer de pulmão (A549), glioma (GL) e célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929);
- avaliar possíveis correlações entre as atividades tumoral e antioxidante.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ACEROLA

Acerola (*Malpighia emarginata* DC), também conhecida como cereja-das-antilhas ou cereja-de-barbados é uma planta integrante da família *Malpighiaceae* (BELWAL et al., 2018). A fruta é nativa da América Central e cresce principalmente em regiões que vão desde o sul do Texas até o norte da América do Sul devido à sua boa adaptação ao clima tropical e subtropical (MALEGORI et al., 2017; DELVA e SCHNEIDER, 2013). Sua difusão ocorreu antes do descobrimento das Américas, através dos nativos das ilhas da América Central que a transportavam em suas viagens espalhando-a pelas diversas ilhas da região (MEZADRI et al., 2006).

A acerola é um fruto do tipo drupa que possui formato arredondado, ovalado ou cônico, e no estado maduro pode apresentar tons de vermelho, roxo, amarelo e até mesmo branco (CALGARO e BRAGA, 2012). O fruto apresenta alta perecibilidade após a colheita, o que dificulta o armazenamento por longos períodos e consumo na forma *in natura* (RIBEIRO; COSTA; AFONSO, 2016).

O interesse pela acerola e seu potencial econômico iniciaram em 1946 através dos pesquisadores Asenjo e Gusman de Porto Rico, cujos estudos revelaram a alta quantidade de vitamina C (ácido ascórbico) presente no fruto (PRAKASH e BASKARAN, 2018). A partir desse momento, iniciou-se o plantio comercial em Porto Rico que posteriormente difundiu para Cuba, Flórida e Haváí (CALGARO e BRAGA, 2012). Além do elevado teor de ácido ascórbico, possui quantidades significativas de outros compostos bioativos como compostos fenólicos, carotenoides e alta atividade antioxidante (JAESCHKE, MARCZAK e MERCALI, 2016).

A acerola é normalmente processada na forma de sucos, polpas, geleias e compotas (SILVA, DUARTE e BARROZO, 2019). Na Alemanha, Hungria e França é normalmente consumida na forma de sucos. Nos Estados Unidos é largamente utilizada por indústrias farmacêuticas e de suplementos como uma fonte de vitamina C (DELVA e SCHNEIDER, 2013).

O Brasil destaca-se como o maior produtor de acerola, com 7.000 hectares de área plantada, produzindo cerca de 150.000 toneladas por ano. A espécie passou a ser cultivada no país em 1955, através da Universidade Federal de Pernambuco (CALGARO; BRAGA, 2012). O domínio do mercado de exportação de produtos processados de acerola também

é brasileiro, com produtos como a fruta congelada, suco, marmelada, concentrado congelado, geleia e licor (DELVA e SCHNEIDER, 2013).

Prevê-se que o mercado global de extratos de acerola atinja 17,5 bilhões de dólares até 2026. De acordo com a Future Markets Insight Survey, as principais empresas atuando no mercado de extratos de acerola são Green Labs LLC, Nutrilite (Amway), Naturex, Nature's Power Nutraceuticals Corp., Florida Food, Inc., Diana Naturals e Vita Forte (BELWAL et al., 2018).

3.2 SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO DA ACEROLA

Estima-se que o processo de fabricação de sucos e polpas de acerola gere uma quantidade de resíduo em torno de 40% do volume da fruta (LOUSADA JÚNIOR et al., 2006). Este resíduo, composto basicamente pela casca, polpa e caroços, quando descartado na natureza é um potencial poluente. Tal descarte, representa um desperdício de matéria-prima que poderia estar sendo aplicada na obtenção de energia ou outros produtos de maior valor agregado. Com o crescente interesse por tecnologias que gerem baixo impacto ambiental e promovam a sustentabilidade, observa-se a busca pelo aproveitamento dos resíduos provenientes de indústrias processadoras de frutas (REZENDE, NOGUEIRA e NARAIN, 2018).

Em estudo desenvolvido para caracterizar o resíduo industrial da acerola constatou-se que o resíduo apresenta elevadas concentrações de antocianinas, compostos fenólicos e vitamina C, podendo ser utilizados como suplementos alimentares (SANCHO et al. 2015). Em outro estudo, onde foi realizada a quantificação de compostos bioativos em polpas e subprodutos de doze frutas brasileiras, observou-se teores de betacaroteno, licopeno, antocianinas e flavonoides amarelos no subproduto da acerola superiores aos encontrados na polpa da mesma (SILVA et al. 2014).

A atividade antioxidante do resíduo de acerola também foi comprovada através de experimentos *in vitro*, sendo os compostos fenólicos, flavonoides totais e antocianinas totais os principais compostos bioativos identificados no resíduo (REZENDE et al., 2017). A avaliação de extratos hidroetanólico e hidrometanólico de resíduos de acerola revelou grande capacidade de sequestro dos radicais DPPH e ABTS, e inibição da peroxidação do ácido linoleico (CAETANO et al., 2011).

Alguns estudos vêm apontando aplicações do resíduo agroindustrial de acerola. O encapsulamento de extratos de compostos bioativos do resíduo da acerola utilizando

maltodextrina e goma arábica se mostrou eficiente, mantendo boa atividade antioxidante e sustentando assim seu potencial de aplicação em alimentos funcionais e nutracêuticos (REZENDE, NOGUEIRA e NARAIN, 2018). A adição de farinhas obtidas de resíduos de acerola na formulação de uma barra de cereal resultou em um produto com maior valor nutricional, enriquecido em compostos fenólicos, vitamina C, atendendo às crescentes tendências do mercado consumidor (MARQUES et al., 2015).

Tabela 1. Trabalhos na literatura relacionados ao resíduo de acerola

Objetivo	O que foi alcançado?	Referência
Estudar a extração assistida com ultrassom de compostos antioxidantes do resíduo de acerola	Condições ótimas de extração em 67,5% de etanol, temperatura de 80,9 °C, razão líquido-sólido de 59,8 mL/g e tempo de 13,6 minutos. Verificou-se alta concentração de compostos antioxidantes no resíduo.	(SILVA et al., 2020)
Caracterizar o resíduo de acerola para utilização em processo de pirólise contínua	Biomassa manteve a mesma estrutura de grupos funcionais após a secagem convectiva, ideal ao seu reaproveitamento no processo de pirólise.	(SILVA et al., 2020 b)
Avaliar a capacidade antioxidante do resíduo agroindustrial de acerola	Os extratos demonstraram forte capacidade de sequestro do radical DPPH e retardaram a formação de peróxidos e dienos conjugados.	(CAETANO et al., 2011)
Avaliar a utilização de resíduos agroindustriais como substrato para produção de mudas de açazeiro solteiro	Os substratos obtidos podem substituir os substratos comerciais sem alterar a qualidade das sementes de <i>Euterpe precatoria</i>	(ARAÚJO et al., 2020)

3.3 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

Segundo HALLIWELL e GUTTERIDGE (1995), compostos antioxidantes podem ser definidos como “qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações, em comparação com as de um substrato oxidável, atrasa ou impede significativamente a oxidação desse substrato”. Os antioxidantes atuam evitando danos causados por reações químicas que envolvem radicais livres aos componentes celulares (YOUNG e WOODSIDE, 2001).

Radicais livres são átomos e moléculas muito reativas devido à presença de elétrons desemparelhados e possuem ação prejudicial sobre lipídios, proteínas e DNA (NIMSE e PAL, 2015). Estudos evidenciam a associação entre espécies reativas de oxigênio e radicais livres com doenças como câncer, catarata, aterosclerose, insuficiência renal crônica e diabetes mellitus (DIPLOCK, 1994; YOUNG e WOODSIDE, 2001). Observa-se também uma redução na capacidade cognitiva associada a baixa ingestão de compostos antioxidantes (NIMSE e PAL, 2015).

Através de uma dieta variada, composta por diferentes frutas e vegetais, é possível obter uma vasta gama de compostos antioxidantes. É conhecido que o consumo de frutas na infância está associado com a diminuição dos riscos de desenvolvimento de câncer durante a vida adulta (MAYNARD et al., 2003).

De acordo com MEZADRI et al. (2008), “os valores de atividade antioxidante obtidos para o suco de acerola foram superiores aos relatados para outros sucos de frutas, particularmente sucos ricos em polifenóis, como sucos de morango, uva e maçã, entre outros”. A atividade antioxidante do suco de acerola depende principalmente da sua concentração de compostos fenólicos e vitamina C (RIGHETTO, NETTO e CARRARO, 2005). Em estudo que avaliou as propriedades antimicrobianas e atividade antioxidantes de extratos fenólicos de acerola, observou-se que a capacidade antioxidante das frações fenólicas obedece à ordem: antocianina < ácidos fenólicos < flavonoides (DELVA e SCHNEIDER, 2013b).

3.3.1 Principais compostos antioxidantes da acerola

3.3.1.1 Vitamina C

Vitamina C é um composto essencial para a biossíntese de colágeno, carnitina e neurotransmissores (PRAKASH e BASKARAN, 2018). A quantidade de vitamina C

presente na acerola pode variar de acordo com fatores relacionados a variedade genética, condições climáticas do local, método de cultivo, disponibilidade de nutrientes no solo, além do estágio de maturação.

Em função da maior concentração de vitamina C na acerola imatura, é comum companhias nutracêuticas optarem por utilizar a fruta neste estágio de maturação para produção de suplementos alimentares (DELVA e SCHNEIDER, 2013a). Em estudo realizado para avaliar a citotoxicidade e efeito mutagênico da acerola, verificou-se que não ocorreu efeitos citotóxicos e mutagênicos em ratos Wistar, porém maiores concentrações de vitamina C acarretaram aumentos significativos nas anormalidades cromossômicas (DÜSMAN et al., 2012).

3.3.1.2 *Compostos fenólicos*

Compostos fenólicos são importantes metabólitos e estão presentes em todas as plantas. Estes se apresentam na acerola na forma de flavonoides, antocianinas e ácidos fenólicos. Sua concentração varia de acordo com o genótipo, estágio de maturação e condições de cultivo e processamento (PRAKASH e BASKARAN, 2018).

Flavonoides são o grupo de compostos fenólicos mais encontrados nos alimentos e estão relacionados a redução dos riscos de desenvolvimento de doenças crônicas (DELVA e SCHNEIDER, 2013a). Há poucos dados a respeito dos flavonoides encontrados na acerola, e esforços vêm sendo aplicados no estudo de tais compostos. Antocianinas são uma subclasse dos flavonoides. São responsáveis por conferir as cores vermelha, azul e roxa de flores e frutas (DELVA e SCHNEIDER, 2013a). Segundo DELVA e SCHNEIDER (2013a, p.116), “o tipo de antocianina presente nos frutos da acerola depende da variedade; algumas variedades podem conter antocianina aglicona livre, enquanto outras não”.

Ácidos fenólicos são um grupo de compostos derivados dos ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzóicos. Dentre os ácidos hidroxicinâmicos se encontram os ácidos p-cumárico, ferúlico, sinápico e cafeico já identificados em extratos de acerola (DELVA e SCHNEIDER, 2013a).

3.4 ATIVIDADE ANTITUMORAL

Diversos estudos vêm evidenciando a atividade antitumoral de fontes ricas em

compostos antioxidantes (GOLDBERG et al., 2015; PALMERI et al., 2016; BARROS et al., 2015; CANDIDA et al., 2014; BOEING et al., 2019; ELKADY et al., 2017; CALGAROTTO et al., 2018), como pode ser observado na Tabela 2.

Avaliou-se o extrato aquoso da flor de *Hibiscus rosa-sinensis* no crescimento celular de melanoma. O extrato apresentou inibição sobre o crescimento de células de melanoma em uma dose dependente da concentração e não afetou o crescimento de células não tumorais (GOLDBERG et al., 2015).

O extrato bruto de folhas de *Olea europaea* L. (Oliva) foi avaliado com relação ao seu potencial como agente terapêutico contra o câncer de pele. Verificou-se que o extrato induziu a apoptose de células B16-F10. O perfil metabólico revelou 23 metabólitos presentes no extrato. Sabe-se que as folhas de oliva possuem diversos compostos fenólicos como ácidos fenólicos, flavonoides e secoiricoides (PALMERI et al., 2016). Tal perfil de composição contribui para a ação antioxidante da planta.

O açaí (*Euterpe oleracea*), uma fruta amazônica, vem chamando atenção por sua alta concentração de compostos antioxidantes (KANG et al., 2012). O extrato aquoso de sementes de açaí já foi avaliado quanto a sua atividade antitumoral e os resultados revelaram alta atividade citotóxica, especialmente para células de carcinoma cervical e não mostrou citotoxicidade para células não tumorais (BARROS et al., 2015).

Avaliação da atividade antitumoral e antimicrobiana de extrato etanólico da fruta de *Morinda citrifolia* L foi realizada. Os resultados mostraram que extrato reduziu a atividade celular e inibiu em 45% a taxa de proliferação celular do melanoma B16-F10. Também exibiu atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (CANDIDA et al., 2014).

A avaliação da atividade antioxidante e antitumoral de extratos de *Butia adorata* foi desenvolvida e atividade antitumoral foi observada sobre linhagens celulares de câncer cervical (SiHa e C33a) (BOEING et al., 2019).

A atividade antitumoral, antioxidante e anti-inflamatória de extrato de partes não comestíveis da fruta de *Casimiroa edulis* foi avaliada e atividade antitumoral contra a linhagem celular Caco-2 foi verificada. Também foi observada alta atividade antioxidante e anti-inflamatória (ELKADY et al., 2017).

Análise das atividades antitumorais de chá verde em células HL-60 de leucemia humana foi desenvolvida e observou-se a redução do crescimento de tumor nos xenoenxertos HL-60 (CALGAROTTO et al., 2018).

A atividade antitumoral do extrato de acerola foi testada em linhagens de tumores, como carcinoma espinocelular oral humano (HSC-2) e o carcinoma da glândula submandibular humana (HSG) e o resultado encontrado foi satisfatório (MOTOHASHI et al., 2004). Não foram encontrados outros trabalhos na literatura referentes a atividade antitumoral do extrato de acerola além do realizado por MOTOHASHI et al., (2004).

Tabela 2. Principais trabalhos na literatura relacionados a atividade antitumoral

Objetivo	O que foi alcançado?	Referências
Avaliação dos efeitos de extrato aquoso da flor de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> no crescimento celular de melanoma.	O extrato inibiu o crescimento de células de melanoma em uma dose dependente da concentração e não afetou o crescimento de células não transformadas.	(GOLDBERG et al., 2015)
Avaliação do extrato bruto de folhas de <i>Olea europaea L.</i> (Oliva) contra o câncer de pele e seu perfil metabólico.	O extrato induziu a apoptose de células B16-F10. O perfil fitoquímico revelou 23 metabólitos presentes no extrato, principalmente terpenos.	(MAJUNDER et al., 2019)
Caracterização de compostos fenólicos de extrato aquoso de sementes de <i>Euterpe oleracea</i> (Açaí) e avaliação de sua atividade antioxidante e citotóxica.	O extrato demonstrou alta atividade citotóxica, especialmente para células de carcinoma cervical e não mostrou citotoxicidade para células não tumorais. Também verificou-se alta atividade antioxidante.	(BARROS et al., 2015)
Avaliação da atividade antitumoral e antimicrobiana de extrato etanólico da fruta de <i>Morinda citrifolia L.</i>	O extrato reduziu a atividade celular e inibiu em 45% a taxa de proliferação celular do melanoma B16-F10. Também exibiu atividade antimicrobiana sobre <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> .	(CANDIDA et al., 2014)
Avaliação da atividade antioxidante e antitumoral e análise dos fenólicos totais de extratos de <i>Butia adorata</i> .	Os extratos demonstraram atividade antitumoral sobre linhagens celulares de câncer cervical (SiHa e C33a). Também identificou-se 13 compostos fenólicos.	(BOEING et al., 2019)

Avaliação dos constituintes ativos e da atividade antitumoral, antioxidante e anti-inflamatória de extrato de partes não comestíveis da fruta de <i>Casimiroa edulis</i> .	Os extratos demonstraram atividade antitumoral contra a linhagem celular Caco-2. Também se observou alta atividade antioxidante e anti-inflamatória.	(ELKADY et al., 2017)
Analisar as atividades antitumorais da quercetina e chá verde em xenoinxertos de células HL60 de leucemia humana.	Quercetina e o chá verde reduziram o crescimento do tumor nos xenoinxertos HL-60.	(CALGAROTTO et al., 2018)
Avaliar a atividade antioxidante, citotóxica, antibacteriana, anti-HIV e anti-H de extratos de acerola.	Extratos mostraram atividade citotóxica contra carcinoma espinocelular oral humano (HSC-2) e o carcinoma da glândula submandibular humana (HSG).	(MOTOHASHI et al., 2004).

É notável diante do presente cenário que há pouco conhecimento a respeito da atividade antitumoral e citotóxica da acerola. O desenvolvimento de pesquisas na área é necessário trazendo uma maior elucidação dos efeitos dos extratos sobre células tumorais e não tumorais e sua potencial aplicação no tratamento de tumores.

4 METODOLOGIA

4.1 PREPARAÇÃO DO EXTRATOS DE ACEROLA

O suco concentrado e o resíduo de acerola foram fornecidos por uma empresa processadora de acerola localizada no Ceará. O resíduo utilizado é proveniente da etapa de clarificação do suco, e é composto por restos de polpa.

Este resíduo foi utilizado para obtenção do extrato utilizado neste trabalho e comparado com o suco concentrado. O extrato utilizado foi obtido no trabalho desenvolvido pela doutoranda Otília Mônica Borges que pesquisa sobre o potencial de aproveitamento dos resíduos de acerola. Este resíduo foi submetido, inicialmente, à um processo de secagem em estufa a 40°C e moagem em moinho de facas. Em seguida, passou por tratamento hidrotérmico (121°C por 12 min) em autoclave e o material hidrolisado foi centrifugado. O extrato líquido obtido foi então concentrado através de nanofiltração.

Para utilização neste trabalho, o extrato do resíduo e o suco de acerola foram liofilizados no equipamento Liotop 101. Para padronização das concentrações dos extratos, 125 mg de amostra liofilizada foram diluídas em 30 mL de água. Em seguida as soluções foram filtradas. A partir das duas soluções anteriores foram preparadas 10 soluções de 5 mL nas concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100, 75, 50, 25, 10 e 0 µg/mL.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO

4.2.1 Determinação de atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada através da metodologia DPPH. O método é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) pelos compostos presentes no extrato gerando um decréscimo da absorbância. Misturou-se 50 µL de extrato a 1.950 µL do reagente DDPH, em seguida mantido por 30 minutos na ausência de luz. Por fim fez-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. A partir dos resultados obtidos, determinou-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres que corresponde a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional (Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995). A seguinte Equação foi utilizada para o cálculo da atividade antioxidante.

$$\%INIBIÇÃO = 100 - \left(\frac{Abs_{médio} \times 100}{Abs_{Controle}} \right)$$

4.2.2 Determinação da vitamina C

A determinação de vitamina C foi executada pelo método do oxalato (SELIMOVIC, SALKIC e SELIMOVIC, 2011), em que 0,2 mL do extrato foi misturado com 1,5 mL de solução de oxalato de sódio (0,005 mol/L) e deixado em repouso por 5 min para a extração da vitamina C. Foram realizadas leituras de absorbância a 266 nm, utilizando a solução de oxalato de sódio como branco em cubetas de quartzo. Para a construção da curva de calibração foi utilizado o ácido L-ascórbico, e a partir da equação obtida foi calculado a concentração de vitamina C.

4.2.3 Determinação dos compostos fenólicos

A quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras foi medida baseado no método colorimétrico descrito por SINGLETON, ORTHOFER e LAMUELA-RAVENTÓS, (1999) com modificações. Adicionou-se 20 µL das amostras (previamente diluídas se necessário) a 1580 µL de água destilada e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu. Após 8 minutos, 300 µL de solução de carbonato de sódio 20% (m/v) foi adicionado ao meio reacional. Em seguida as amostras foram incubadas a 40°C por trinta minutos, e a absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro. Para a obtenção da concentração dos compostos fenólicos foi construída uma curva de calibração com ácido gálico (GAE) (Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós, 1999).

4.3 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS

A avaliação preliminar da atividade citotóxica e atividade antitumoral *in vitro* dos extratos foi realizada contra linhagens de adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231), câncer de pulmão (A-549), glioma (GL) e contra célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929).

Todas as linhagens foram mantidas em meio de crescimento ou DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 100 U/mL de penicilina e 100 mg/mL de estreptomicina (GIBCO BRL, Grand Island, NY) enriquecido com 10% do soro

bovino fetal. Todas as culturas foram mantidas a 37 °C em incubadora umidificada com 5% de CO₂ e 95% de ar.

4.3.1 Avaliação do efeito citotóxico

As células foram semeadas 10.000 células/poço em placas de 6 poços. As placas foram pré-incubadas por 24 horas a 37 °C para permitir a adesão das células antes da adição dos extratos. Após 24 horas, soluções preparadas de meio fresco dos diferentes extratos foram adicionadas às células variando a concentração de 0 a 1000 µg/mL. Posteriormente, as placas foram inoculadas por 24 e 48 h em uma atmosfera de 5% de CO₂ e 95% de umidade relativa. Os grupos controles incluíram DMSO a 0,65% (controle negativo) e doxorubicina (10 µM, controle positivo). A viabilidade celular foi estimada medindo-se a taxa de redução mitocondrial do MTS. Resumidamente, após o tempo de incubação, o extrato foi removido, as células foram lavadas com PBS, 20 µL de solução de MTS e 100 µL de meio fresco foram adicionados a cada poço, incubadas por 2 h em incubadora. Após, a densidade óptica (DO) foi avaliada usando um espectrofotômetro a 490 nm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização das soluções com diferentes concentrações do extrato e do suco de acerola são apresentadas a seguir. Em todas as análises foi observado uma boa correlação linear com as concentrações testadas. As análises de determinação da concentração de compostos fenólicos, vitamina C e atividade antioxidante do extrato e do suco foram realizadas somente a partir de 100 µg/mL, pois observou-se resultados mais expressivos na atividade citotóxica acima deste valor.

A Figura 1 apresenta as concentrações de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato e do suco nas diferentes concentrações utilizadas.

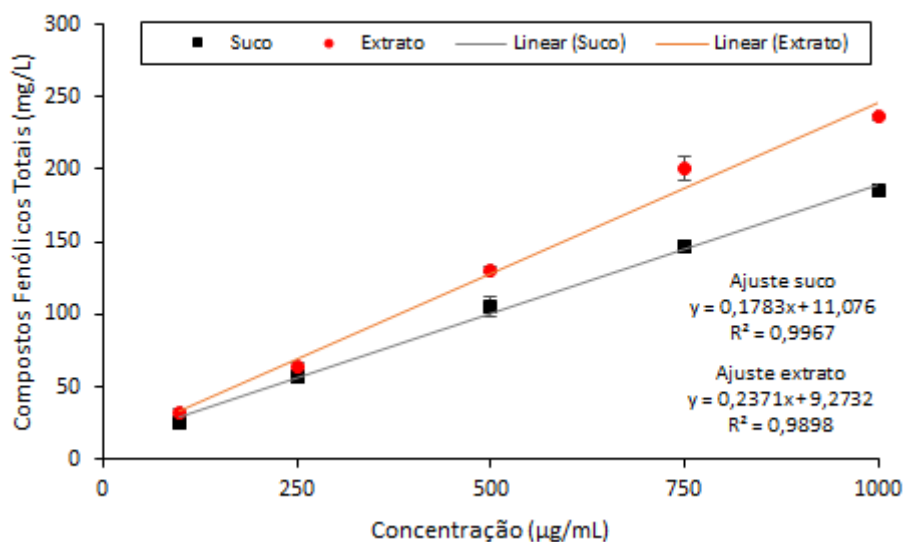


Figura 1. Concentração dos compostos fenólicos totais (CFT) no extrato e no suco. Os dados são referentes a análises realizadas em triplicata.

Os resultados para a concentração de vitamina C (ácido ascórbico) no extrato e no suco nas diferentes concentrações utilizadas são apresentados na Figura 2. Novamente observou-se uma boa correlação linear em ambos os extratos.

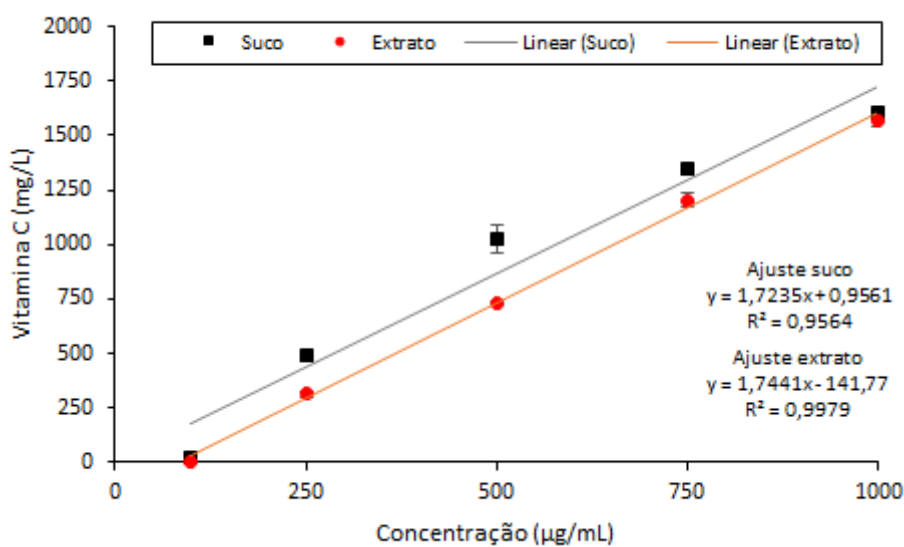


Figura 2. Concentração de vitamina C (ácido ascórbico) no extrato e no suco nas diferentes concentrações utilizadas. Os dados são referentes a análises realizadas em triplicata.

A Figura 3 apresenta os resultados da atividade antioxidante do extrato e do suco nas diferentes concentrações utilizadas.

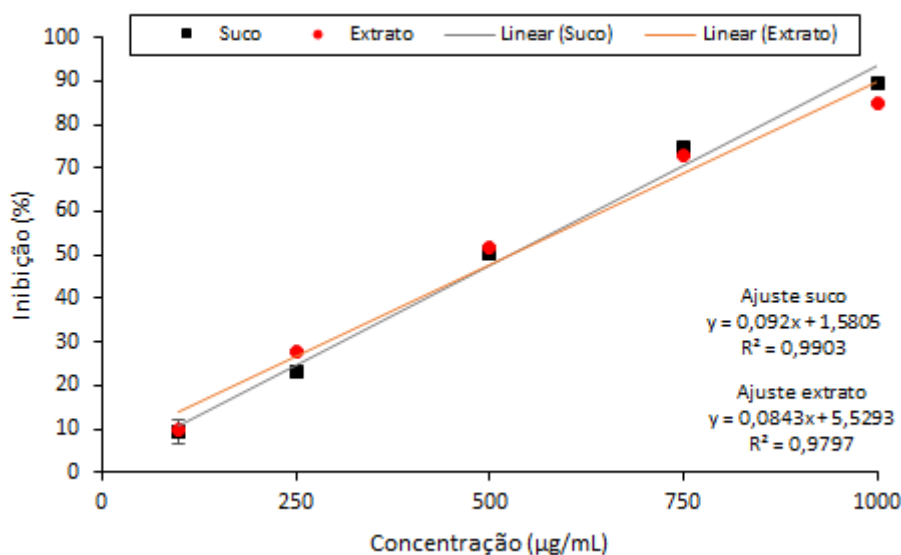


Figura 3. Porcentagem de atividade antioxidante do extrato e do suco nas diferentes concentrações utilizadas. Os dados são referentes a análises realizadas em triplicata.

A porcentagem de atividade sequestradora de radicais livres variou entre $9,3 \pm 2,6$ e $89,6 \pm 0,5$ para o suco e entre $9,6 \pm 0,1$ e $84,9 \pm 0,4$ para o extrato (Figura 3). Também foi verificado que o EC_{50} , que corresponde a concentração necessária para reduzir 50% do DPPH, do suco se encontra ligeiramente abaixo do extrato (Tabela 3), indicando uma maior atividade antioxidante do suco.

Tabela 3. Concentração de extrato e suco de acerola capaz de reagir com 50% do radical DPPH (EC_{50})

	Concentração (µg/mL)
Suco	526,5
Extrato	527,4

As Figuras 4, 5, 6 e 7 apresentam os resultados de atividade metabólica das células adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231), câncer de pulmão (A549), glioma (GL) e célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929) submetidas às diferentes concentrações do extrato e comparado com suco concentrado de acerola. Foi considerado 100% de atividade metabólica para o controle negativo (meio de cultura + 0,65% DMSO). O intervalo de concentração testado na atividade metabólica foi escolhido considerando que as concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$ são normalmente utilizadas como parâmetro nestes ensaios. Optou-se por acrescentar outros pontos entre estes valores para melhor observação da concentração citotóxica.

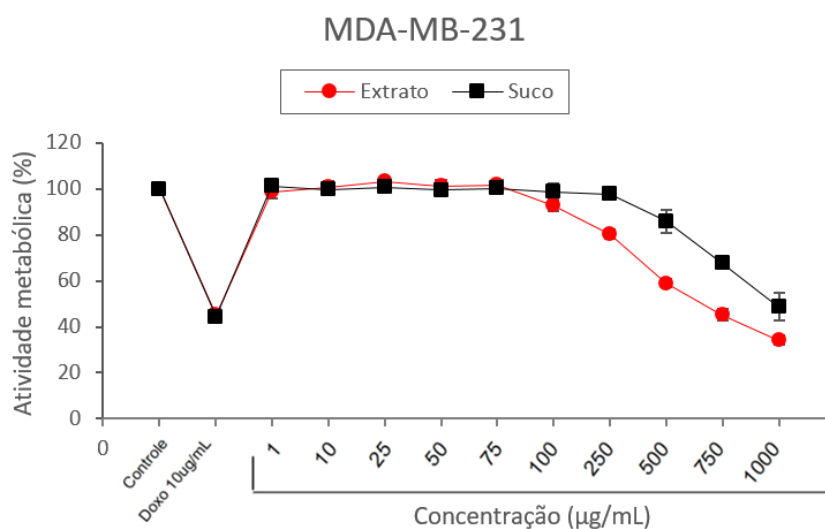


Figura 4. Efeito do extrato e do suco de acerola na atividade metabólica celular de adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231). Os dados representam dois experimentos independentes realizados em triplicata

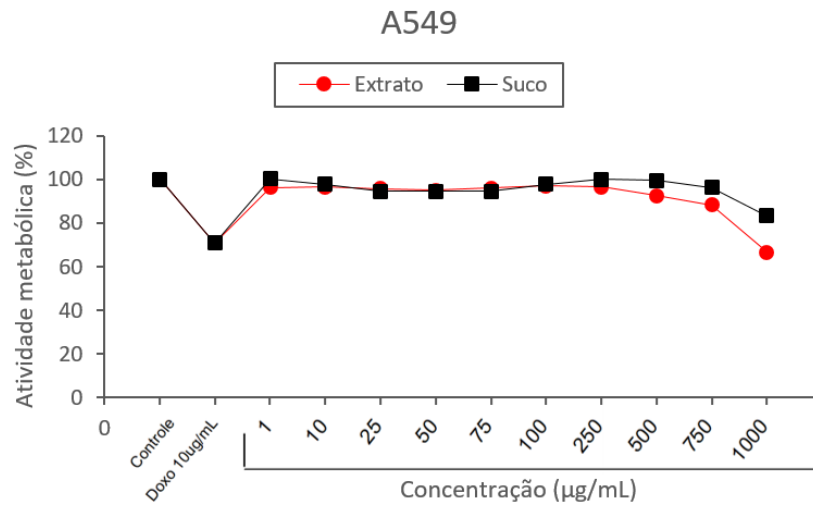


Figura 5. Efeito do extrato e do suco de acerola na atividade metabólica celular de câncer de pulmão (A549). Os dados representam dois experimentos independentes realizados em triplicata.

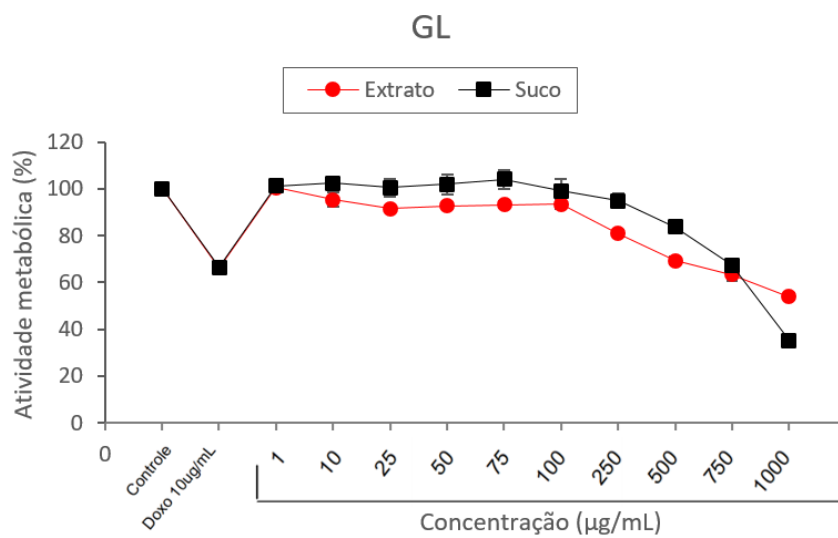


Figura 6. Efeito do extrato e do suco de acerola na atividade metabólica celular de glioma (GL). Os dados representam dois experimentos independentes realizados em triplicata.

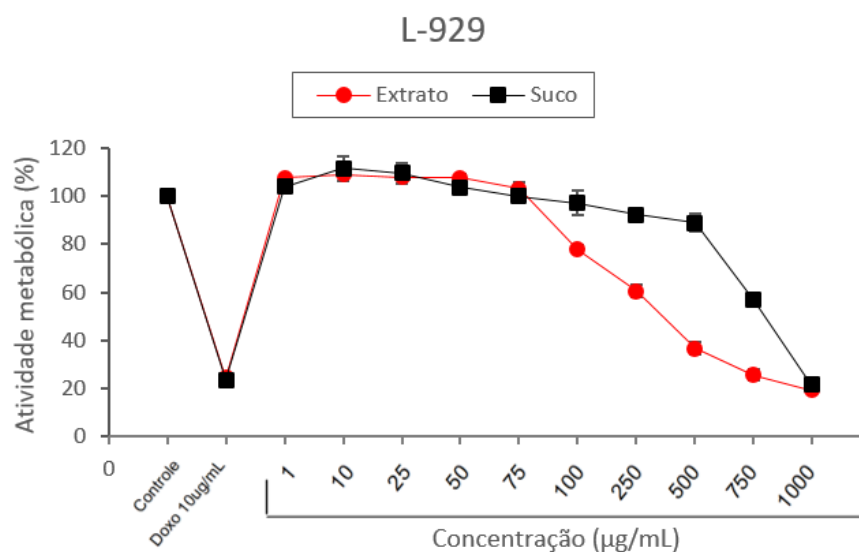


Figura 7. Efeito do extrato e do suco de acerola na atividade metabólica celular de célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929). Os dados representam dois experimentos independentes realizados em triplicata.

A Tabela 4 apresenta as concentrações do extrato e do suco que apresentaram efeito citotóxico eliminando 50% das células em cultura.

Tabela 4. Concentração (µg/mL) necessária para reduzir em 50% (IC₅₀) a atividade metabólica das células em cultura.

	L929	MDA-MB-231	GL	A549
Suco	800	1000	875	>1000
Extrato	375	630	>1000	>1000

Os resultados mostraram que as células de adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231) só começaram a apresentar redução na atividade metabólica a partir de 250 µg/mL tanto para o extrato quanto para o suco. O extrato atingiu 50% de atividade metabólica na concentração de aproximadamente 630 µg/mL, enquanto o suco somente em torno de 1000 µg/mL (Tabela 4). PITTELLA et al. (2009) investigou a atividade citotóxica do extrato aquoso de folhas de *Centella asiatica* e verificou o valor de IC₅₀ de 648.0 µg/mL para as células de adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231). HAQ et al. (2019) avaliou extratos da alga marinha *Chaetomorpha sp.* e foi observado que o extrato etanólico apresentou um

IC₅₀ de 225.18 µg/mL sobre a linhagem MDA-MB-231 enquanto o extrato aquoso não demonstrou nenhum efeito significativo sobre estas células.

Verificou-se que as células de câncer de pulmão (A549) apresentaram redução na curva da atividade metabólica somente a partir de 750 µg/mL, tanto para o extrato quanto para o suco. Nenhum dos extratos atingiu 50% de atividade metabólica. Seria necessária uma concentração superior a 1000 µg/mL (Tabela 4). No entanto, também foi possível notar que o controle positivo, a doxorrubicina, também não apresentou atividade antitumoral sobre esta linhagem celular na concentração utilizada. Estes valores encontrados são bem superiores a alguns trabalhos que reportam a atividade antitumoral de extratos vegetais sobre esta linhagem celular. Zhang, Wang & Xu (2014) avaliaram diferentes extratos de infrutescência de *Platycarya strobilacea* e o extrato de acetato de etila apresentou atividade anticâncer efetiva, com IC₅₀ de 40,1 µg/mL. MACIEL et al. (2018) verificou um valor de IC₅₀ de 117 µg/mL para o extrato de *Hibiscus sabdariffa*. DEGHRIGUE et al. (2013) investigou o extrato orgânico de *Eunicella singularis* e obteve um valor de IC₅₀ de 36 µg/mL. GAAFAR et al. (2018) encontrou para o extrato de manjeriço um valor de IC₅₀ de 32,70 µg/mL.

As células de glioma (GL) também apresentaram redução na atividade metabólica somente a partir de 250 µg/mL para o extrato e para o suco. Até a concentração de 750 µg/mL o extrato apresentou maior efeito sobre a atividade metabólica que o suco, reduzindo-a mais em concentrações menores. Porém, observou-se que acima de 750 µg/mL ocorreu uma inversão e o suco atingiu 50% de atividade metabólica com concentração inferior à do extrato. O suco atingiu 50% de atividade metabólica em aproximadamente 875 µg/mL, enquanto o extrato precisaria de uma concentração acima de 1000 µg/mL (Tabela 4). PITTELLA et al. (2009) também obteve um valor de IC₅₀ elevado, 1000 µg/mL, para as células de glioma sob a ação de um extrato aquoso de folhas de *Centella asiatica*.

As células não tumorais de fibroblastos de pele (L-929) apresentaram redução mais intensa na atividade metabólica acima de 75 µg/mL para o extrato e para o suco. O extrato atingiu 50% de atividade metabólica na concentração de aproximadamente 375 µg/mL, enquanto o suco em aproximadamente 800 µg/mL (Tabela 4). Verifica-se que ambos os extratos apresentaram citotoxicidade sobre a célula saudável. O controle positivo, a doxorrubicina, também apresentou o mesmo efeito sobre esta linhagem celular, porém em

uma concentração bem mais baixa (10 µg/mL). Comparando a outros trabalhos foi possível notar que apesar de os resultados encontrados indicarem um efeito citotóxico sobre as células de L-929, os valores de IC₅₀ são elevados. Também é necessário destacar que é comum se observar fármacos utilizados no tratamento de câncer afetarem células saudáveis. YUSOF & ABDULLAH (2020) avaliaram extratos de *Quercus infectoria* e obtiveram baixa atividade citotóxica sobre as células de L-929, com valores de IC₅₀ superiores a 20 µg/mL. KHAWORY et al. (2020) obteve resultados similares para extratos de *Euodia malayana*, *Gnetum gnemon* e *Khaya senegalensis*, com valores de IC₅₀ superiores a 90 µg/mL. GHAGANE et al. (2017) investigou os extratos metanólico, etanólico e aquoso de folhas de *Allophylus cobbe* e verificou valores de IC₅₀ de 89, 98 e 73 µg/mL, respectivamente.

A partir dos resultados encontrados pode-se dizer que o suco não apresenta atividade citotóxica sobre nenhuma das células testadas, já que as concentrações para atingir 50% de inibição foram maiores que 800 µg/mL. O extrato não apresentou efeito antitumoral sobre as linhagens de câncer de pulmão e glioma. Porém, apresentou certa atividade citotóxica sobre as células não tumorais de fibroblastos de pele e de adenocarcinoma.

Desta forma, considerando os comportamentos antitumoral e citotóxico observados tanto no suco como no extrato, notou-se que o composto que possui maior concentração de CFT, extrato obtido do resíduo, também apresentou maior atividade citotóxica. Comportamento semelhante também foi observado em outros trabalhos. GHAGANE et al. (2017) investigou o extrato das folhas de *Allophylus cobbe* e seus resultados revelaram que o extrato aquoso cuja concentração de compostos fenólicos é de 91,96 mg/g GAE desempenhou uma atividade citotóxica com IC₅₀ de 73.625 µg/mL sobre células de MEF-L929, fibroblasto embrionário de rato, enquanto o extrato metanólico que possuía uma concentração de 89,16 mg/g GAE apresentou uma atividade citotóxica com IC₅₀ de 89.625,51 µg/mL. Células de câncer de próstata DU-145 também foram avaliadas neste estudo, e observou-se que o extrato aquoso resultou em um valor de IC₅₀ de 431,10 µg/mL enquanto o extrato metanólico apresentou uma atividade citotóxica com IC₅₀ de 623,24 µg/mL. HAQ et al. (2019) verificou que o extrato etanólico da alga marinha *Chaetomorpha sp.* sobre a linhagem celular MDA-MB-231 apresentou um IC₅₀ de 225,18 µg/mL e 21,92

mg GAE/g de compostos fenólicos enquanto o extrato aquoso que possuía 2,15 mg GAE/g de compostos fenólicos não demonstrou efeito significativo sobre as células.

Mesmo com a baixa atividade citotóxica foi possível observar que existe correlação entre a concentração de CFT presente no extrato e a redução na atividade metabólica das células L-929, como observado na Fig. 8. É importante que a composição do extrato seja analisada em trabalhos futuros para identificação de possíveis compostos que estejam associados a essa atividade. Além disso, isso pode auxiliar no direcionamento para outras aplicações.

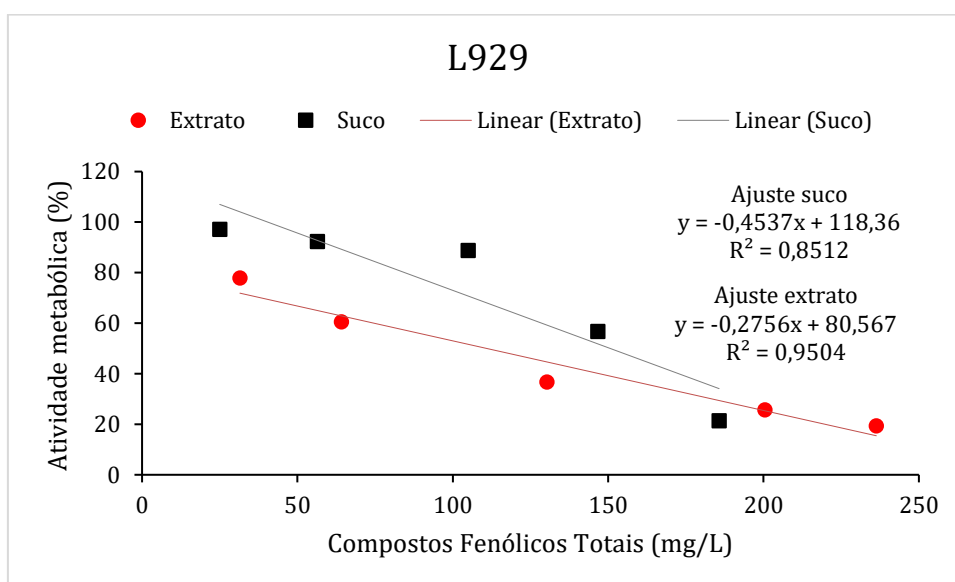


Figura 8. Efeito da concentração de compostos fenólicos totais do extrato e suco na atividade metabólica das células não tumorais de fibroblastos de pele (L929).

Em função dos dados observados constatou-se que a utilização dos extratos não causou o efeito desejado sobre as células avaliadas. Estudos futuros são necessários para avaliar o efeito do extrato de acerola em outras linhagens celulares. A possibilidade de utilização de outros solventes na obtenção do extrato bem como o fracionamento para a concentração de determinados princípios ativos separadamente são alternativas que devem ser avaliadas.

6 CONCLUSÃO

O extrato de acerola obtido do resíduo e o suco de acerola foram caracterizados quanto a composição de antioxidantes, vitamina C e compostos fenólicos. A citotoxicidade *in vitro* de ambos foi avaliada em linhagens celulares de adenocarcinoma humano de mama (MDA-MD-231), câncer de pulmão (A549), glioma (GL) e célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929). E as possíveis correlações entre as atividades antitumoral e antioxidante foram avaliadas.

Observou-se que atividade antioxidante e quantidades de compostos fenólicos e vitamina C é diretamente proporcional a concentração do suco ou extrato utilizados. O extrato obtido do resíduo apresentou maiores valores de compostos fenólicos, enquanto o suco apresentou maiores concentrações de vitamina C. Em relação a atividade antioxidante, não se observou diferença entre o suco e extrato. Os valores de EC₅₀, que corresponde a concentração necessária para reduzir 50% do DPPH do meio, foram semelhantes.

A avaliação do efeito citotóxico revelou que ambos, suco e extrato obtido do resíduo, não possuem o efeito citotóxico desejado nas concentrações utilizadas. Os resultados mostraram valores de IC₅₀, que corresponde a concentração do composto necessária para reduzir em 50% a atividade metabólica, elevados para todas as células avaliadas. Os resultados de citotoxicidade mais positivos foram obtidos para a célula não tumoral de fibroblastos de pele (L-929). Constatou-se que há relação entre a atividade antitumoral e concentração de compostos fenólicos, mesmo que em altas concentrações do extrato.

Para entender melhor a diferença de comportamento do extrato em relação ao suco, análises de identificação de compostos fenólicos são necessários, já que o extrato foi obtido do resíduo e com alta temperatura, podendo levar a extração ou até mesmo a formação de compostos que não estariam naturalmente presentes no suco.

Haja vista que há poucos estudos relacionados a atividade antitumoral de extratos de acerola, o presente estudo contribuiu para ampliação do conhecimento referente ao comportamento do efeito citotóxico destes extratos. No entanto, há ainda uma grande necessidade de elucidação do efeito dos extratos de acerola sobre outras linhagens celulares além das já avaliadas. Bem como a possibilidade de utilização de diferentes solventes na

extração dos compostos bioativos e o fracionamento para a concentração de determinados princípios ativos separadamente.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, C.S.; LUNZ, A.M.P.; SANTOS, V.B.; NETO, R.C.A; NOGUEIRA, S.R.; SANTOS, R.S. Use of agro-industry residues as substrate for the production of Euterpe precatoria seedlings. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 50, e58709, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5058709>>. Acesso em out. 2020.

BARROS, L.; CALHELHA, R.C.; QUEIROZ, M.J.R.P.; SANTOS-BUELGA, C.; SANTOS, E.A.; REGIS, W.C.B.; FERREIRA, I.C.F.R. The powerful in vitro bioactivity of Euterpe oleracea Mart. seeds and related phenolic compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 318-322, 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.086>>. Acesso em nov. 2019.

BELWAL, T., DEVKOTA, H. P., HASSAND, H. A., AHLUWALIA, S., RAMADAN, M. F., MOCANH, A., ATANASOVI, A. G. Phytopharmacology of Acerola (Malpighia spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, 74, p. 99-106, 2018. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.01.014>>. Acesso em out. 2019.

BOEING, J.S.; BARIZÃO, E.O.; ROTTA, E.M.; VOLPATO, H.; NAKAMURA, C.V.; MALDANER, L.; VISENTAINER, J.V. Phenolic Compounds from Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick Fruit and Its Antioxidant and Antitumor Activities. **Food Analytical Methods**, p. 1-8, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s12161-019-01515-6>>. Acesso em nov. 2019.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E. E BERSET, C. Respostas Perceptivas E, LWT - **Food Science and Technology**, 28(1), p. 25–30, 1995. Disponível em:<[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)>. Acesso em dez. 2020.

CAETANO, A.C.S.; ARAUJO, C.R.; LIMA, V.L.A.G.; MACIEL, M.I.S.; MELO, E.A. Evaluation of antioxidant activity of agro-industrial waste of acerola (Malpighia emarginata D.C.) fruit extracts. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 31(3), p.769–775, 2011. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612011000300034>>. Acesso em nov. 2019.

CALGARO, M.; BRAGA, M. B. **A cultura da acerola**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2012. 150 p (Coleção Plantar, 69).

CALGAROTTO, A.K.; MASO, V.; FRANCHI, G.C.J.; NOWILL, A.E.; LATUF, P.F.; VASSALLO, J.; SAAD, S.T.O. Antitumor activities of Quercetin and Green Tea in xenografts of human leukemia HL60 cells. **Scientific Reports**, 8, 3459, 2018. Disponível em:<<https://doi.org/10.1038/s41598-018-21516-5>>. Acesso em nov. 2019.

CANDIDA, T.; FRANÇA, J.P.; CHAVES, A.L.F.; LOPES, F.A.R.; GAIBA, S.; SACRAMENTO, C.K.; FERREIRA, L.M.; FRANÇA, L.P. Evaluation of antitumoral and antimicrobial activity of Morinda lictrifolia L. grown in Southeast Brazil. **Acta Cir.**

Bras, v. 29, p. 10.14, 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502014001400003>>. Acesso em nov. 2019.

DEGHRIGUE, M.; DELLAI, A.; AKREMI, N.; MORVAN, V.L.; ROBERT, J.; BOURAOUI, A. Evaluation of antiproliferative and antioxidant activities of the organic extract and its polar fractions from the Mediterranean gorgonian *Eunicella singularis*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 36, p. 339-356, 2013. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23712134/>>. Acesso em jul. 2020.

DELVA, L.; SCHNEIDER, R. G. Acerola (*Malpighia emarginata* DC): Production, Postharvest Handling, Nutrition, and Biological Activity. **Food Reviews International**, 29(2), p. 107–126, 2013 a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/87559129.2012.714433>>. Acesso em out. 2019.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, 48(5), p. 1048–1056, 2013 b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijfs.12061>>. Acesso em out. 2019.

DIPLOCK, A. T. Antioxidants and disease prevention. **Molecular Aspects of Medicine**, v.15, I. 4, p. 293-376, 1994. Disponível em:<[https://doi.org/10.1016/0098-2997\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0098-2997(94)90005-1)>. Acesso em nov. 2019.

DÜSMAN, E.; FERREIRA, M.F.S.; BERTI, A.P.; MARIUCCI, R.G.; MANTOVANI, M.S.; VICENTINI, V.E.P. Investigation of cytotoxic and mutagenic effects of *Malpighia glabra* L. (barbados cherry) fruit pulp and vitamin C on plant and animal test systems. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, 2, p. 405-411, 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000054>>. Acesso em nov. 2019.

ELKADY, W.M.; IBRAHIM, E.A.; GONAIID, M.H.; EL BAZ, F.K. Chemical Profile and Biological Activity of *Casimiroa Edulis* Non-Edible Fruit's Parts. **Adv Pharm Bull**, 7(4), 655-660, 2017. Disponível em:<[10.15171/apb.2017.079](https://doi.org/10.15171/apb.2017.079)>. Acesso em nov. 2019.

GAAFAR, A.A.; NOOMAN, M.U.; IBRAHIM, E.A.; ALI, M.M.; AL-KASHEF, A.S. Prophylactic and Therapeutic Uses of Egyptian *Mentha spicata* L., *Mentha piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Stalks as Agro-industrial Byproducts. **Journal of Biological Sciences**, 18 (7), p. 354-363, 2018. Disponível em:<<https://scialert.net/abstract/?doi=jbs.2018.354.363>>. Acesso em jul. 2020.

GHAGANE, S.C.; PURANIK, S.I.; NERLI, R.B.; HIREMATH, M.B. Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Allophylus cobbe* leaf extracts on DU-145 and PC-3 human prostate cancer cell lines. **Cytotechnology**, 69, p. 167-177, 2017. Disponível em:<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27990568/>>. Acesso em jul. 2020.

GOLDBERG, K. H., YIN, A. C., MUPPARAPU, A., RETZBACH, E. P., GOLDBERG, G. H., YANG, C. F. Components in aqueous *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract inhibit in vitro melanoma cell growth. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**,

7, p. 45-49, 2016. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5198834/>>. Acesso em out. 2019.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology and Medicine**, Vol. 18, No.I, p. 125-126, 1995. Disponível em:<[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)91457-3](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)91457-3)>. Acesso em nov. 2019.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 69(2), p. 280–286, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1271/bbb.69.280>>. Acesso em out. 2019.

HANAMURA, T.; MAYAMA, M.; AOKI, H.; HIRAYAMA, Y.; SHIMIZU, M. Antihyperglycemic Effect of Polyphenols from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 70:8, p. 1813-1820, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1271/bbb.50592>>. Acesso em out. 2019.

HAQ, S.H.; AL-RUWAISHED, G.; AL-MUTLAQ, M.A.; NAJI, S.A.; AL-MOGREN, M.; AL-RASHED, S.; AIN, Q.T.; AL-AMRO, A.A.; AL-MUSSALLAM, A. Antioxidant, Anticancer Activity and Phytochemical Analysis of Green Algae, *Chaetomorpha* Collected from the Arabian Gulf. **Scientific Reports**, 9:18906, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.1038/s41598-019-55309-1>>. Acesso em jul. 2020.

JAESCHKE, D. P.; MARCZAK, L. D. F.; MERCALI, G. D. Evaluation of non-thermal effects of electricity on ascorbic acid and carotenoid degradation in acerola pulp during ohmic heating. **Food Chemistry**, 199, p. 128-134, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.117>>. Acesso em out. 2019.

KANG, J.; THAKALI, K.M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OUB, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M.B.;SCHAUSS, A.G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chem.**, 133, p. 671–677, 2012. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.048>>. Acesso em nov. 2019.

KHAWORY, M.H.; SAIN, A.A.; ROSLI, M.A.A.; ISHAK, M.S.; NOORDIN, M.I.; WAHAB, H.A. Effects of gamma radiation treatment on three different medicinal plants: Microbial limit test, total phenolic content, in vitro cytotoxicity effect and antioxidant assay. **Applied Radiation and Isotopes**, 157, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2019.109013>>. Acesso em jul. 2020.

LOUSADA JÚNIOR, J. E.; COSTA, J.M.C; NEIVA, J.M.N.; RODRIGUEZ, N.M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 70-76, 2006. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/225/220>>. Acesso em nov. 2019.

MACIEL, L.G.; CARMO, M.A.V.; AZEVEDO, L.; DAGUER, H.; MOLOGNONI, L.; ALMEIDA, M.M.; GRANATO, D.; ROSSO, N.D. Hibiscus sabdariffa anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. **Food and Chemical Toxicology**, 113, p. 187-197, 2018. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151830053X?via%3Dihub>>. Acesso em jul. 2020.

MAIA, G. A.; SOUSA, P.H.M.; SANTOS, G.M.; SILVA, D.S.; FERNANDES, A.G.; PRADO, G.M. Effect of the processing on some components of acerola juice [Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola]. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(1), p. 130–134, 2007. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612007000100023>>. Acesso em nov. 2019.

MAJUMDER, D., DEBNATH, M., KUMAR, K. V. L., NATH, P., DEBNATH, R., SARKAR, C., PRASAD, G. B. K. S., VERMA, Y. K., MAITI, D. Metabolic profiling and investigations on crude extract of *Olea europaea* L. leaves as a potential therapeutic agent against skin cancer. **Journal of Functional Foods**, 58, p. 266-274, 2019. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.05.005>>. Acesso em out. 2019.

MALEGORI, C.; NASCIMENTO MARQUES, E. J.; DE FREITAS, S. T.; PIMENTEL, M. F.; PASQUINI, C.; CASIRAGHI, E. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, 165, p. 112-116, 2017. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.035>>. Acesso em nov. 2019.

MARQUES, T.R.; CAETANO, A.A.; SIMÃO, A.A.; CASTRO, F.C.O.; RAMOS, V.O.; CORRÊA, A.D. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, no.2 p. 191-196, 2016. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.015>>. Acesso em out. 2020.

MARQUES, T.R.; CESAR, P.H.S.; BRAGA, M.A.; MARCUSSI, S.; CORRÊA, A.D. Fruit Bagasse Phytochemicals from *Malpighia Emarginata* Rich in Enzymatic Inhibitor with Modulatory Action on Hemostatic Processes. **Journal of Food Science**, vol.83, p. 2840-2849, 2018. Disponível em:< <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14330> >. Acesso em out. 2020.

MARQUES, T.R.; CORRÊA, A.D.; ALVES, A.P.C.; SIMÃO, A.A.; PINHEIRO, A.C.M.; RAMOS, V.O. Cereal bars enriched with antioxidant substances and rich in fiber, prepared with flours of acerola residues. **Journal of Food Science and Technology**, 52(8), p. 5084-5092, 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s13197-014-1585-2>>. Acesso em nov. 2019.

MAYNARD, M.; GUNNEL, D.; EMMETT, P. Fruit, vegetable and antioxidant in childhood and risk of adult cancer: the Boyd Orr cohort. **J Epidemiol Comm Health**, 57, p.218-225, 2003. Disponível em:<<https://jech.bmj.com/content/57/3/218>>. Acesso em nov. 2019.

MEZADRI, T.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; VILLAÑO, D.; GARCÍA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. El fruto de la acerola: composición y posibles usos alimenticios. **ALAN**, v. 56, n. 2, p. 101-109, 2006. Disponível em: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000200001&lng=es&nrm=iso>. Acesso em out. 2019.

MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p. 282-290, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.02.002>>. Acesso em nov. 2019.

MONTEIRO, S.A.; BARBOSA, M.M.; SILVA, F.F.M.; BEZERRA, R.F.; MAIA, K.S. Preparation, phytochemical and bromatological evaluation of flour obtained from the acerola (*Malpighia punicifolia*) agroindustrial residue with potential use as fiber source. **LWT - Food Science and Technology**, 134, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110142>>. Acesso em set. 2020.

MOTOHASHI, N., WAKABAYASHI, H., KURIHARA, T., FUKUSHIMA, H., YAMADA, T., KAWASE, M., SATOH, K. Biological activity of Barbados cherry (acerola fruits, fruit of *Malpighia emarginata* DC) extracts and fractions. **Phytotherapy Research**, 18(3), p. 212–223, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ptr.1426>>. Acesso em out. 2019.

NIMSE, S.B. & PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, 5, p. 27986–28006, 2015. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c4ra13315c#!divAbstract>>. Acesso em nov. 2019.

PALMERI, R.; MONTELEONE, J. I.; SPAGNA, G.; RESTUCCIA, C.; RAFFAELE, M.; VANELLA, L.; LI VOLTI, G.; BARBAGALLO, I. Olive leaf extract from sicilian cultivar reduced lipid accumulation by inducing thermogenic pathway during adipogenesis. **Frontier Pharmacology**, 7, 143, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00143>>. Acesso em nov. 2019.

PITTELLA, F.; DUTRA, R.C.; JUNIOR, D.D.; LOPES, M.T.P.; BARBOSA, N.R. Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Centella asiatica* (L) Urb. **International Journal of Molecular Sciences**, 10, p. 3713-3721, 2009. Disponível em: <[10.3390/ijms10093713](https://doi.org/10.3390/ijms10093713)>. Acesso em jul. 2020.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers. **J Food Sci Technol**, 55(9): p. 3373–3384, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3309-5>>. Acesso em out. 2019.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric

characterization. **Food Chemistry**, 254, p. 281-291, 2018. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>>. Acesso em nov. 2019.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT - Food Science and Technology**, 85, p. 158–169, 2017. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.020>>. Acesso em out. 2019.

RIBEIRO, L. C.; COSTA, J. M. C.; AFONSO, M. R. A. Hygroscopic behavior of lyophilized acerola pulp powder. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, p. 269–274, 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n3p269-274>>. Acesso em out. 2019.

RIGHETTO, A.M.; NETTO, F.M.; CARRARO, F. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Juices from Mature and Immature Acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology International**, 11(4), p. 315–321, 2005. Disponível em:<<https://doi.org/10.1177/1082013205056785>>. Acesso em nov. 2019.

SANCHO, S.O.; SILVA, A.R.A.; DANTAS, A.N.S.; MAGALHÃES, T.A.; LOPES, G.S.; RODRIGUES, S.; COSTA, J.M.C.; FERNANDES, F.A.N.; SILVA, M.G.V. Characterization of the industrial residues of seven fruits and prospection of their potential application as food supplements. **Journal of Chemistry**, 8 p., 2015. Disponível em:<<https://doi.org/10.1155/2015/264284>>. Acesso em nov. 2019.

SELIMOVIĆ, A., SALKIĆ, M. E SELIMOVIĆ, A. Direct Spectrophotometric Determination of L- Ascorbic acid in Pharmaceutical Preparations using Sodium Oxalate as a Stabilizer, **International Journal of Basic & Applied Sciences**, 11(April), p. 106–109, 2011. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/268260022_Direct_spectrophotometric_determination_of_Lascorbic_acid_in_pharmaceutical_preparations_using_sodium_oxalate_as_a_stabilizer>. Acesso em dez. 2020.

SILVA, P. B., DUARTE, C.R., BARROZO, M.A.S. Dehydration of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue in a new designed rotary dryer: effect of process variables on main bioactive compounds. **Food Bioprod. Process.** 98, p. 62–70, 2016. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.12.008>>. Acesso em out. 2019.

SILVA, L.M.R.; FIGUEIREDO, E.A.T.; RICARDO, N.M.P.S.; VIEIRA, I.G.P.; FIGUEIREDO, R.W.; BRASIL, I.M.; GOMES, C.L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, 143, p.398–404, 2014. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>>. Acesso em nov. 2019.

SILVA, P.B.; MENDES, L.G.; REHDER, A.P.B.; DUARTE, C.R.; BARROZO, M.A.S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from acerola

waste. **Journal of Food Science and Technology**, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04500-8>>. Acesso em set. 2020.

SILVA, J.D.O.; SANTOS, D.E.L.; ABUD, A.K.S.; OLIVEIRA, A.M. J. Characterization of acerola (*Malpighia emarginata*) industrial waste as raw material for thermochemical processes. **Waste Management**, 107, p.143-149, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.03.037>>. Acesso em set. 2020.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. E LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*. Academic Press, 299, p. 152–178, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)>.

YOUNG, I. S. & WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, 54, p. 176–186, 2001. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11253127>>. Acesso em nov. 2019.

YUSOF, W.N.S. & ABDULLAH, H. Phytochemicals and Cytotoxicity of *Quercus infectoria* Ethyl Acetate Extracts on Human Cancer Cells. **Tropical Life Science Research**, 31 (1), p.69-84, 2020. Disponível em:<<https://doi.org/10.21315/tlsr2020.31.1.5>>. Acesso em jul. 2020.

WANG, M.Y.; WEST, B.J.; JENSEN, C.J.; NOWICKI, D.; SU C.; PALU, A.K.; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacol Sin**, 23(12), p.1127-41, 2002. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12466051>>. Acesso em nov. 2019.

ZHANG, L.; WANG, Y.; XU, M. In vitro Antitumor Activities of *Platycarya strobilacea* Sieb et Zucc Infructescence Extracts. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 13 (6): p. 849-854, 2014. Disponível em:<<https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/107628>>. Acesso em jun. 2020.