



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Pedro Paulo Saldanha Coimbra

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL, SEGURANÇA
TOXICOLÓGICA E PERFIL METABOLÔMICO DE FARINHA DE
CASCA DE BETERRABA**

RIO DE JANEIRO

2024

Pedro Paulo Saldanha Coimbra

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL, SEGURANÇA
TOXICOLÓGICA E PERFIL METABOLÔMICO DE FARINHA DE
CASCA DE BETERRABA**

Tese elaborada como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutor em Alimentos e Nutrição através do Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição – PPGAN – da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Fernando Araújo Lima de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Anderson Junger Teodoro

RIO DE JANEIRO

2024

Catálogo informatizada pelo(a) autor(a)

C652 Coimbra, Pedro Paulo Saldanha
 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL, SEGURANÇA
TOXICOLÓGICA E PERFIL METABOLÔMICO DE FARINHA DE CASCA DE
BETERRABA / Pedro Paulo Saldanha Coimbra. -- Rio de
Janeiro, 2024.
 156

 Orientador: Carlos Fernando Araújo Lima de Oliveira.
 Coorientador: Anderson Junger Teodoro.
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e
Nutrição, 2024.

 1. Beta vulgaris L.. 2. Resíduos vegetais. 3. Câncer de
mama. I. Oliveira, Carlos Fernando Araújo Lima de ,
orient. II. Teodoro, Anderson Junger, coorient. III.
Título.

Pedro Paulo Saldanha Coimbra

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL, SEGURANÇA TOXICOLÓGICA E PERFIL METABOLÔMICO DE FARINHA DE CASCA DE BETERRABA

Tese elaborada como parte dos requisitos obrigatórios
para a obtenção do grau de Doutor em Alimentos e
Nutrição através do Programa de Pós-Graduação em
Alimentos e Nutrição – PPGAN – da Universidade
Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO.

Aprovado em 15 de maio de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **CARLOS FERNANDO ARAUJO LIMA DE OLIVEIRA**
Data: 19/06/2024 11:45:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Fernando Araújo Lima de Oliveira
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Documento assinado digitalmente
 **JULIANA CORTES NUNES DA FONSECA**
Data: 19/06/2024 11:52:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Documento assinado digitalmente
 **SIMONE NUNES DE CARVALHO**
Data: 19/06/2024 12:39:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Simone Nunes de Carvalho
Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

Documento assinado digitalmente
 **CARLOS ADAM CONTE JUNIOR**
Data: 19/06/2024 17:52:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Adam Conte Junior
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Documento assinado digitalmente
 **DANIEL PERRONE MOREIRA**
Data: 25/06/2024 06:19:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Daniel Perrone Moreira
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

**RIO DE JANEIRO
2024**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar eu gostaria de agradecer a Deus por me conceder discernimento e calma para que eu pudesse chegar tão longe. Acredito que Ele tenha feito isso através das pessoas que me apoiaram neste período de minha vida.

Aproveito, assim, para agradecer a minha esposa, Rosita Bianca Ribeiro Lima, por todo o apoio, carinho e compreensão. Se cheguei tão longe foi, sem dúvida alguma, devido à sua presença na minha vida.

Em um momento em que tudo deu errado para mim e eu desisti, o Prof. Dr. Carlos Fernando Araújo Lima de Oliveira e o Prof. Dr. Anderson Junger Teodoro me deram apoio e me ofereceram a chance de continuar. Estejam certos que seus e-mails, reuniões, comentários e pensamentos críticos reacenderam minha paixão pela pesquisa. Assim, não posso deixar de agradecê-los pela confiança de que seria possível realizar um trabalho de qualidade com o tempo que me restava. Foi uma honra ser orientado por vocês.

Eu acredito fortemente que não se faz ciência sozinho. É preciso ter contato com pessoas, ideias e experiências diferentes para expandir nossa mente e assim aprender. Por isso, agradeço aos meus companheiros do Laboratório de Mutagênese Ambiental da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) pelo apoio, em especial meus alunos de Iniciação Científica, Adrielli de Carvalho Teixeira e Gabriel Oliveira Brito, pois sem eles me faltariam boas reflexões e risadas.

Ainda no âmbito das parcerias, eu gostaria de agradecer a Prof. Dra. Ananda da Silva Antonio, pois sem seu apoio e cooperação eu não conseguiria atingir meus objetivos.

Gostaria ainda de agradecer novamente à Associação Brasileira de Mutagênese e Genômica Ambiental, a qual sou membro, pelo prêmio Alexander Hollaender concedido a mim no XVI Congresso da MutaGen-Brasil em 2023, na área de nutrigenômica, uma área nova a qual eu recentemente me inseri, mas que atiza meu desejo por conhecimento como pesquisador.

Por fim, gostaria de agradecer as agências de fomento pelo apoio financeiro ao meu projeto, em especial a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos pois sem ela eu não conseguiria dedicar o tempo necessário à conclusão deste trabalho.

Muitas pessoas nunca entenderão o seu esforço para alcançar seus objetivos. Elas questionarão suas decisões, irão te criticar por suas escolhas, e reclamar de sua ausência, pois as horas estudando e trabalhando viram dias, meses e anos. Ao final, quando você alcançar o que almeja, elas dirão que você teve sorte, enquanto apenas os mais próximos de você entenderão o valor da sua conquista.

RESUMO

O aproveitamento integral dos alimentos possui extrema relevância pela necessidade de redução da formação de resíduos em toda a cadeia produtiva, sendo incluído como um dos Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas. Do ponto de vista alimentar, o aproveitamento de resíduos vegetais pode ser realizado através do processamento para a obtenção de subprodutos, como farinhas, reduzindo os custos de manejo e impacto ambiental e os reinserindo na economia. Considerando que esses resíduos são uma fonte relevante de compostos bioativos que, muitas vezes, permanecem preservados nos subprodutos obtidos, há uma oportunidade de desenvolver subprodutos a partir de resíduos como a casca de beterraba, comumente obtida na etapa de pré-preparo para o consumo e que é relatada como fonte de compostos bioativos com diversas ações sobre a saúde, incluindo possíveis efeitos antitumorais. Ainda hoje, o câncer de mama permanece com a maior letalidade no sexo feminino, trazendo relevância para seu estudo. Assim, considerando a possível ação antitumoral de compostos bioativos da beterraba e a oportunidade de obtenção desses compostos a partir de um subproduto de baixo custo como sua casca, a presente Tese tem por objetivo avaliar a segurança desse subproduto, bem como seus efeitos sobre linhagens celulares de câncer de mama. A presente Tese inclui três artigos científicos, sendo um artigo de revisão e dois artigos originais. A farinha de casca de beterraba (FCB) produzida apresentou atividade antitumoral em modelos celulares de câncer de mama com concentração para letalidade de 50% das células (LC50) estabelecida em 20mg/mL para tratamentos de 24h, sem modificação do LC50 para a linhagem MCF-7 por até 72h, mas com redução para cerca de 8mg/mL para a linhagem MDA-MB-231 no mesmo período. Em células MDA-MB-231, observou-se ainda uma inibição da formação de novos clones pelas células sobreviventes ao tratamento de forma dose-dependente ($R^2 > 0,9$). A atividade antitumoral observada pode estar relacionada com a presença de diversos fitoquímicos, incluindo betalainas (principal pigmento da beterraba), flavonoides, ácidos fenólicos, alcaloides, entre outros. No estudo *in silico* das propriedades farmacocinéticas das betalainas, indicaxantina se destacou como o pigmento mais promissor. Além disso, a FCB não apresentou capacidade mutagênica em de modelo bacteriano com e sem ativação metabólica exógena, demonstrando a segurança dos compostos originais e de seus metabólitos. Por fim, a farinha de casca de beterraba foi considerada uma fonte segura para obtenção de compostos com atividade antitumoral contra o câncer de mama.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L., resíduos vegetais, compostos bioativos, câncer de mama

ABSTRACT

The full utilization of food is extremely relevant due to the need to reduce waste formation throughout the production chain, being included as one of the Sustainable Development Goals of the United Nations. From a food perspective, the utilization of vegetable waste can be achieved through processing to obtain by-products, such as flours, reducing handling costs and environmental impact and reintroducing them into the economy. Considering that these waste products are a relevant source of bioactive compounds that often remain preserved in the obtained by-products, there is an opportunity to develop by-products from waste such as beetroot peel, commonly obtained in the pre-preparation stage for consumption and reported as a source of bioactive compounds with various health actions, including possible anti-tumor effects. Today, breast cancer remains the most lethal cancer in females, emphasizing the importance of its study. Thus, considering the potential anti-tumor action of bioactive compounds from beetroot and the opportunity to obtain these compounds from a low-cost by-product such as its peel, the present Thesis aims to evaluate the safety of this by-product, as well as its effects on breast cancer cell lines. This Thesis includes three scientific articles, one review article, and two original articles. The beetroot peel flour (BPF) produced showed anti-tumor activity in breast cancer cell models, with a concentration for 50% cell lethality (LC50) established at 20mg/mL for 24-hour treatments, with no modification of the LC50 for the MCF-7 lineage for up to 72 hours, but with a reduction to about 8mg/mL for the MDA-MB-231 lineage in the same period. In MDA-MB-231 cells, there was also an inhibition of new clone formation by surviving cells to treatment in a dose-dependent manner ($R^2 > 0.9$). The observed anti-tumor activity may be related to the presence of various phytochemicals, including betalains (the main pigment of beetroot), flavonoids, phenolic acids, alkaloids, among others. In the *in silico* study of the pharmacokinetic properties of betalains, indicaxanthin stood out as the most promising pigment. Additionally, the BPF showed no mutagenic capacity in a bacterial model assay with and without exogenous metabolic activation, demonstrating the safety of the original compounds and their metabolites. Finally, beetroot peel flour was considered a safe source for obtaining compounds with anti-tumor activity against breast cancer.

Keywords: *Beta vulgaris* L., vegetable residues, bioactive compounds, breast cancer

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	13
1. Aproveitamento integral dos alimentos, sustentabilidade e economia circular	13
2. Beterraba (<i>Beta vulgaris</i> L.).....	14
3. Elaboração de farinhas de resíduos vegetais para obtenção de compostos bioativos	16
4. Compostos bioativos: Importância para a saúde e sua relação com o câncer.....	16
5. Avaliação toxicológica de bioativos para fins terapêuticos	18
6. Evidências da ação de compostos bioativos sobre o câncer de mama.....	19
CAPÍTULO II – JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES DE PESQUISA	21
CAPÍTULO III - OBJETIVOS	22
1. Objetivo geral.....	22
2. Objetivos específicos	22
CAPÍTULO IV – RED BEETROOT: PIGMENTS EFFICACY AND SAFETY IN CANCER CONTEXT	23
Abstract	24
Resumo.....	25
1. Introduction	26
2. Betalains.....	27
2.1. Biosynthesis, molecular structure and antioxidant properties	28
2.1.1. Betacyanins	30
2.1.2. Betaxanthins.....	31
2.1.3. Antioxidant properties.....	31
2.2. Distribution over red beetroot parts	34
3. Betalains and cancer.....	36
3.1. Antitumor properties	36

3.2. Immunomodulatory activity in cancer context	44
3.3. Bioavailability of betalains	47
3.4. Safety concerns in red beetroot extracts production for use as antitumor adjuvants	50
4. Discussion	53
5. Final considerations and future perspectives	54
6. Conflicts of interest	55
7. Funding	55
8. References	56
CAPÍTULO V – ANTIOXIDANT CAPACITY, ANTITUMOR ACTIVITY AND METABOLOMIC PROFILE OF A BEETROOT PEEL FLOUR.....	68
Abstract	69
Resumo.....	70
1. Introduction	71
2. Materials and Methodology	73
2.1. Flour Development.....	73
2.2. Antioxidant Activity	73
2.2.1. Total Phenolic Compounds (TPCs)	73
2.2.2. ABTS Radical Scavenging.....	74
2.2.3. DPPH Radical Scavenging.....	74
2.2.4. Ferric Iron Reducing Antioxidant Parameter (FRAP)	74
2.2.5. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).....	74
2.3. Influence on Cancer Cells	74
2.3.1. BPF Extract Preparation.....	75
2.3.2. Cell Culture	75
2.3.3. Cell Viability.....	75
2.4. Qualitative Chemical Profile.....	76
2.5. Statistical Analysis	78

3. Results and Discussion.....	78
3.1. Antioxidant Activity of BPF Extracts	78
3.2. Influence of BPFw on Breast Cancer Cell Survival.....	79
3.3. Chemical profile of BPF extracts and their influence on cancer cell metabolism	82
4. Conclusions	90
Supplementary Materials	91
Author Contributions	91
Funding	91
Institutional Review Board Statement:	91
Informed Consent Statement:.....	91
Data Availability Statement:	92
Conflicts of interest:.....	92
References	92
 CAPÍTULO VI – MUTAGENICITY ASSESSMENT, ANTIMUTAGENIC ACTIVITY, INFLUENCE ON BREAST CANCER CELLS CLONES FORMATION, BETALAINS PROFILE AND ADMET PREDICTION OF A BEETROOT PEEL FLOUR.....	101
Abstract	102
Resumo.....	103
1. Introduction.....	104
2. Material and Methodology.....	107
2.1. Flour elaboration	107
2.2. BPF extracts preparation.....	107
2.3. <i>Salmonella</i> /microsome assay – Ames test	107
2.4. DNA chemoprevention and <i>in vitro</i> antimutagenic activity	108
2.5. Influence over breast cancer cell.....	109
2.5.1. Cell culture	109
2.5.2. Clones' formation – clonogenic assay	109

2.6 Betalains study	110
2.6.1. Total betalains determination.....	110
2.6.2. UHPLC-HRMS Betalains profile	111
2.6.3. Betalains semi-quantification.....	112
2.7. ADMET <i>in silico</i> predictions of identified betalains	113
2.8. Statistical analysis	113
3. Results and Discussion.....	114
3.1. Mutagenicity	114
3.2. <i>In vitro</i> antimutagenic activity of BPF extract.....	116
3.3. Influence of BPF over breast cancer cells.....	119
3.4. Betalains profile and cancer metabolism	121
3.5. ADMET <i>in silico</i> predictions of the identified betalains	127
4. Conclusion	133
5. Conflicts of interest	133
6. Funding	133
7. Acknowledgements	134
8. References	134
CAPÍTULO VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS	146
CAPÍTULO VIII – CONCLUSÃO.....	148
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

1. Aproveitamento integral dos alimentos, sustentabilidade e economia circular

Atualmente, com a proposta da ONU das 17 metas de Objetivos de Desenvolvimento Sustentável para o ano de 2030, realizada em 2015, houve uma convergência do interesse global pela sustentabilidade, a fim de preservar o meio ambiente em concomitância com o desenvolvimento tecnológico e industrial. Dentre essas metas, estão inclusas: a meta 2 para zerar a fome no mundo, a meta 9 para a indústria, inovação e infraestrutura sustentáveis, a meta 11 para a elaboração de mecanismos de sustentabilidade para cidades e comunidades, e a meta 12 para o consumo e a produção responsáveis (UNITED NATIONS, 2021).

Em paralelo, nacionalmente, encontra-se vigente o Plano Nacional de Resíduos Sólidos e que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Dentre as vertentes do plano, encontra-se o manejo de resíduos gerados na agricultura e na agroindústria, que de acordo com o plano original, são destinados para a produção de adubos e biocombustíveis (BRASIL, 2012). Porém, considerando que resíduos vegetais são alimentos inteiros ou partes (como cascas, talos, folhas e sementes) que foram descartados ou perdidos durante a cadeia de produção ou venda ao consumidor, sua utilização de forma alimentar se torna muito relevante devido ao seu valor nutricional, em relação aos alimentos inteiros, e ao fato de que as frações não usualmente consumidas dos alimentos também serem ricas em nutrientes como vitaminas, outros compostos bioativos e minerais (LIN et al., 2013).

Estas políticas explicitam, no que tange a alimentação, como o aproveitamento integral dos alimentos tem vital importância, tomando como base a diversidade da alimentação a fim de atender as necessidades nutricionais dos indivíduos utilizando partes não-convencionais dos alimentos, como folhas, cascas e talos, na elaboração de produtos ou para consumo *in natura* ou cozidos (DA SILVEIRA; BEDÊ; NICOMEDES, 2021; PADILHA et al., 2015).

Resíduos vegetais podem ser classificados em dois grandes grupos: o primeiro, considera os resíduos ou subprodutos perdidos durante o processo de plantio, colheita e distribuição ao consumidor, incluindo vegetais inteiros ou partes, enquanto o segundo, considera os resíduos ou subprodutos provenientes do pré-preparo e preparo dos

alimentos para o consumo, principalmente partes não usualmente consumidas, como cascas e sementes (FERREIRA et al., 2015; SAGAR et al., 2018).

Este cenário torna de extrema importância o desenvolvimento de tecnologias e produtos que reinsiram esses resíduos na cadeia produtiva, principalmente em países em desenvolvimento, onde a falta de conhecimento tecnológico é responsável pelo desperdício de até 40% dos alimentos produzidos durante toda a cadeia produtiva (RAWDKUEN; KAEWPRACHU, 2020).

Dessa forma, o reaproveitamento desses resíduos promove sustentabilidade e reinsere matérias-primas importantes na economia, possibilitando a elaboração de novos produtos e reduzindo o impacto ambiental de seu acúmulo e o impacto financeiro de seu manejo (GIROTTI; ALIBARDI; COSSU, 2015; LIN et al., 2013).

Há evidências na literatura de que resíduos vegetais como as cascas, folhas, sementes e talos são grandes fontes de compostos bioativos tornando viável sua exploração como matéria-prima (SAGAR et al., 2018), o que vai ao encontro de políticas públicas vigentes no país, auxiliando na redução do impacto ambiental gerado por estes resíduos, bem como fornecendo matérias-primas de baixo custo para a obtenção de novos produtos com potencial benefício à saúde (BRASIL, 2012).

Em geral, compostos bioativos são moléculas produzidas pelo metabolismo secundário dos vegetais e podem se apresentar livres no citoplasma ou conjugados à outras moléculas (LIU et al., 2019; PINAFFI et al., 2020), possibilitando sua extração e utilização de diferentes formas (SAGAR et al., 2018).

Assim, considerando que o reaproveitamento de resíduos vegetais é uma ampla área de conhecimento, o presente estudo abordará apenas a casca de beterraba (*Beta vulgaris* L.).

2. Beterraba (*Beta vulgaris* L.)

A beterraba é um vegetal da família *Chenopodiaceae*, com a forma mais conhecida de consumo é o de sua raiz, de coloração vermelho-roxa, podendo ser consumida *in natura* ou com diferentes níveis de cozimento e/ou processamento, sendo utilizada também para a produção de açúcar, com sua forma de consumo variando de

acordo com o hábito alimentar dos povos (BABARYKIN et al., 2019), de forma que, além da porção interna da raiz, os caules e as folhas jovens são consumidas como saladas frescas, enquanto que essas mesmas partes são consumidas fritas quando o vegetal está maduro (AKAN; TUNA GUNES; ERKAN, 2021). Dessa forma, a casca da beterraba se torna o principal resíduo formado em sua cadeia produtiva e consumo.

Este é um vegetal rico em diferentes tipos de compostos bioativos como betalainas (principalmente betacianinas e betaxantinas) (ZIN; BÁNVÖLGYI, 2021), carotenoides, compostos fenólicos e vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, folatos e cianocobalamina), e outras vitaminas (C, E, K) (CHHIKARA et al., 2019; LILIANA; OANA-VIORELA, 2020). Essas moléculas vêm sendo correlacionados com diferentes efeitos biológicos tais quais efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, hepatoprotetores, antidiabéticos e anti-hipertensivos (CHHIKARA et al., 2019).

Estudos já foram realizados a fim de promover a reutilização da casca de beterraba como fonte de compostos bioativos como as betalainas dos tipos betanina, uma betacianina, e betaxantinas (ZIN; BÁNVÖLGYI, 2021), antocianinas, taninos, flavonoides, alcaloides e polifenóis (EL-BELTAGI et al., 2018), e fibras alimentares (CHHIKARA et al., 2019). Ressalta-se ainda que a betanina e os polifenóis são encontrados em concentração superior na casca da beterraba do que em outras partes, incluindo a porção interna da raiz (ŠEREMET et al., 2020).

Extratos da casca da beterraba também vêm sendo testados como antibacterianos em diferentes cepas como *Listeria monocytogenes* (SALAMATULLAH et al., 2021), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* (MAQBOOL et al., 2020), como antifúngico contra a *Candida albicans* (SALAMATULLAH et al., 2021), e contra diferentes linhagens celulares de cânceres como a A549 para câncer de pulmão (EL-BELTAGI et al., 2018), a HepG2 para cancer de fígado, a CAL 27 para câncer de língua e a Caco-2 para câncer de cólon (ŠEREMET et al., 2020). De fato, ainda que os mecanismos não estejam completamente elucidados, as betalainas da beterraba têm sido relatadas como possíveis bioativos contra o câncer (LECHNER; STONER, 2019).

Assim, é natural que hajam ainda estudos que apresentem diferentes formas de utilização e produtos elaborados a partir da casca da beterraba, como pós antioxidantes (MISTRIANU et al., 2022), extratos antioxidantes concentrados (ZIN; BÁNVÖLGYI, 2021), utilização como corantes naturais em substituição à corantes artificiais (SHETTY, 2020) e utilização como adjuvantes em vinhos (DESHMUKH; DESHMUKH, 2021), a fim de se elaborar produtos funcionais e com benefícios a saúde.

3. Elaboração de farinhas de resíduos vegetais para obtenção de compostos bioativos

Considerando que os resíduos vegetais são perecíveis e que podem ser degradados por microorganismos, tratamentos adicionais são necessários a fim de preservar o material para que seja possível sua reutilização plena ou como matéria-prima para a extração de compostos bioativos. Nesse sentido, a secagem desse material e a formulação de farinhas vegetais é uma alternativa viável e muito explorada na literatura (FERREIRA et al., 2015; LARROSA; OTERO, 2021).

A elaboração de farinhas a partir de resíduos vegetais apresenta diversos benefícios como a possibilidade de estocagem em temperatura ambiente, menor susceptibilidade a degradação por microorganismos devido à menor umidade do material, maior capacidade de estocagem (mais massa em menor volume) e maior preservação dos nutrientes e bioativos de interesse. Essas vantagens coexistem ainda com um menor custo de manejo e operação, permitindo ampla utilização deste método de preservação (LARROSA; OTERO, 2021).

4. Compostos bioativos: Importância para a saúde e sua relação com o câncer

No que tange o impacto do consumo de compostos bioativos sobre a saúde, evidências são apresentadas com relação a ação de diversos compostos de origens vegetais e classificações (compostos fenólicos, carotenoides, aminoácidos não-proteicos, antocianinas, vitaminas, entre outros) sobre diferentes tipos de doenças, principalmente doenças crônicas não-transmissíveis, como o diabetes (GOTHAI et al., 2016), a hipertensão e doenças cardiovasculares (BAHRAMSOLTANI et al., 2019), doenças neuro-degenerativas relacionadas à inflamação (MASTINU et al., 2019), e o câncer (LAGEIRO et al., 2020).

Câncer é o nome dado à uma formação neoplásica decorrente de mutações genéticas e/ou de estímulos externos que culminam em uma diferenciação celular não adequada ao tecido em que se encontra, podendo permanecer como célula não diferenciada ou diferenciando-se em uma célula especializada de outro tecido, e que é capaz de transferir essas características para células-filhas através da mitose, levando a incongruências teciduais (ALBERTS et al., 2011). O desenvolvimento atípico dessas células nesse tecido leva à formação de um microambiente, que utiliza os meios já disponíveis neste tecido para sua própria nutrição e proliferação, podendo também ampliar estes recursos estimulando a angiogênese (HANAHAAN; WEINBERG, 2011). As células de câncer podem ainda se desassociar de seu tecido de origem e se alojar ou infiltrar em outros tecidos, adjacentes ou não, dando origem à metástase (ALBERTS et al., 2011; HANAHAAN; WEINBERG, 2011).

Ainda que o desenvolvimento do câncer seja multifatorial e que assuma comportamentos diferentes de acordo com o tecido de origem, certos comportamentos celulares podem ser observados em todos os casos e já foram descritos como marcadores clássicos para o câncer, como a sustentação da sinalização proliferativa, a evasão de inibidores de crescimento, a possibilidade de ativamente invadir outros tecidos, a realização de mitoses consecutivas, a indução da angiogênese e a resistência a morte celular. Além disso, a literatura recente inclui ainda a evasão da destruição celular pelo sistema imune e o desbalanço energético celular como possíveis novos marcadores, além de também incluir a instabilidade genômica e processos inflamatórios como possíveis facilitadores da formação do câncer (HANAHAAN; WEINBERG, 2011).

Dessa forma, considerando que o câncer é uma doença multifatorial, alguns estudos visam correlacionar a alimentação, a obesidade e processos inflamatórios com o possível surgimento de diferentes neoplasias (LECHNER; STONER, 2019; LÓPEZ-SUÁREZ, 2019; TAN; HAMID, 2021).

Uma estimativa global sobre a prevalência de câncer no ano de 2020 constatou que o câncer de mama ultrapassou o câncer de pulmão como a principal causa de morte por este tipo de doença em indivíduos do sexo feminino, posição que mantém até hoje (SUNG et al., 2021). Assim, o presente estudo tem foco na verificação das evidências da capacidade antitumoral de compostos bioativos sobre o câncer de mama.

5. Avaliação toxicológica de bioativos para fins terapêuticos

No que tange a saúde pública, sempre que um novo produto é elaborado e proposto como adjuvante ao tratamento de doenças, análises de segurança relacionadas ao seu uso devem ser realizadas, com testes toxicológicos servindo para este fim. A classificação dos compostos varia de acordo com a legislação vigente em cada país, porém, tomando a legislação Europeia como base, vemos a abordagem é a de testes sequenciais, divididos em 3 grupos, onde: o grupo 1 fornece as informações mínimas necessárias sobre o bioativos; o grupo 2 avalia a absorção, a toxicidade e a genotoxicidade *in vitro* dos bioativos; e o grupo 3 avalia a capacidade de bioacúmulo do composto, sua genotoxicidade *in vivo* e sua toxicidade crônica (VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021).

Dentre as análises que compõem o grupo 1, encontra-se o teste de mutação reversa bacteriana (VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021), também conhecido como teste de Ames, uma vez que um resultado positivo neste teste traz a indicação de uma possível ação carcinogênica do composto avaliado (GALVÃO, 2022), e deve ser realizado em todos os novos produtos formulados e destinados ao mercado Europeu (VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021).

Por outro lado, visando a avaliação da eficácia de novos compostos contra o câncer, outros testes *in vitro* podem ser realizados como a influência sobre a viabilidade e ciclo celular e a formação de micronúcleos. Em ambos os testes, a capacidade do composto de agir sobre o metabolismo celular é verificada, porém de formas distintas e complementares. No primeiro caso, a multiplicação *in vitro* do tipo celular escolhido é realizada com a verificação posterior da proporção de células em cada fase do ciclo celular. Assim, um acúmulo de células em uma fase específica pode indicar uma possível ação do bioativo avaliado (KIM et al., 2018; NIGRA et al., 2021; VERMA; SRIVASTAV, 2020). No segundo, a avaliação recai especificamente sobre a interfase da divisão celular, onde, após uma duplicação incorreta dos cromossomos, a célula poderá apresentar micronúcleos, sendo uma ferramenta útil na avaliação de danos cromossômicos causados pelo bioativos de interesse (OCDE, 2016). Dessa forma, os testes apresentados são considerados complementares e indicados para a avaliação da

ação de um ou mais compostos sobre células de câncer, além de fornecer informações sobre a segurança de seu uso terapêutico.

6. Evidências da ação de compostos bioativos sobre o câncer de mama

O câncer de mama é um diagnóstico baseado em critérios patológicos padronizados, caracterizado como carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobular invasivo, ou outras formas híbridas destes dois tipos e/ou outras anomalias raras. As formas ductal invasivo e lobular invasivo compreendem de 55% a 90% dos casos deste tipo de câncer (WAKS; WINER, 2019). Além disso, essa neoplasia pode também ser categorizada em 4 grandes tipos: positivo para receptor de hormônio (HRP); positivo para fator de crescimento da epiderme 2 (HER2); triplo negativo; e subtipo claudina-baixo (SINGH et al., 2021).

O câncer de mama vem sendo correlacionado com processos inflamatórios sistêmicos e geralmente apresentam pior prognóstico (WELLENSTEIN et al., 2019), possivelmente devido a um maior processo de angiogênese intra-tumoral que, além de nutrir a massa tumoral, permite também o deslocamento celular podendo elevar o risco de metástase (OSHI et al., 2020), principalmente quando associado à obesidade, considerando que este estado corporal é suficiente para estimular a patogênese do câncer de mama (NAGAHASHI et al., 2018). Dessa forma, abordagens anti-inflamatórias vêm sendo estudadas a fim de prevenir ou auxiliar no tratamento do câncer de mama, havendo inclusive patentes já registradas para produtos de origem vegetal utilizados para este fim (SINGH et al., 2021).

Em um estudo realizado com células MCF-7 como modelo celular de câncer do tipo HRP-HER2-Luminal A, Kim et al. (2018) reportaram que extratos da casca de *Citrus unshiu* foram eficazes na indução da apoptose celular por mecanismos intrínsecos, como a ativação da via AMPK, e por mecanismos extrínsecos como o controle da formação de espécies reativas de oxigênio. Células MCF-7 são pouco eficazes na angiogênese (COMSA; CIMPEAN; RAICA, 2015), porém a formação de espécies reativas de oxigênio sinaliza a ativação de processos pró-inflamatórios que podem levar à vascularização do tecido de forma a superar a incapacidade desse modelo celular (COMSA; CIMPEAN; RAICA, 2015; FORRESTER et al., 2018), podendo levar a piores

prognósticos. Considerando que o câncer de mama é capaz de resistir à quimioterapia (KUMAR et al., 2019), a redução da formação de espécies reativas de oxigênio torna-se um objetivo relevante a fim de impedir a angiogênese e favorecer a apoptose.

A indução da apoptose deste tipo celular também foi alcançada com o uso de extratos de casca de banana (*Nendran*) (KUMAR et al., 2019), extratos de café robusta (*Coffea canephora*) (NIGRA et al., 2021), com ambos os autores sugerindo uma correlação entre a atividade antioxidante dos extratos analisados e a indução da apoptose deste modelo celular.

Outro mecanismo de ação de extratos vegetais foi a alteração da expressão gênica de células MDA-MB-231, modelo de câncer de mama do tipo triplo negativo, reportado por Ahmadiankia et al. (2018), onde os autores utilizaram extrato de casca de romã (*Punica granatum*) e observaram a redução da expressão gênica que controla capacidade migratória deste tipo celular como a maior expressão para a produção de ICAM-1 (molécula responsável pela adesão celular) e redução da expressão de fibronectina e do fator de crescimento endotelial vascular, se traduzindo em uma menor vascularização do tumor e menor risco de metástase. Polifenóis da manga (*Mangifera indica* L.) também foram reportados como indutores de apoptose deste tipo celular através da modulação da via PI3K/AKT/mTOR associada a micro-RNAs (ARBIZU-BERROCAL et al., 2019).

Estes estudos trazem evidências de que é possível desenvolver extratos que possuam atividade biológica desejável no apoio ao tratamento do câncer de mama.

CAPÍTULO II – JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES DE PESQUISA

Considerando que o aproveitamento de resíduos vegetais vai ao encontro de políticas públicas brasileiras e que a casca de beterraba é fonte de compostos bioativos que possuem evidências científicas de correlação à prevenção de doenças e possíveis influências sobre o metabolismo de células de câncer, torna-se imprescindível realizar estudos que validem essas evidências do ponto de vista da eficácia e da segurança toxicológica decorrente de seu consumo para fins terapêuticos, e que contribuam para o avanço do conhecimento científico nessa área.

Considerando que o tratamento térmico é recomendado como forma de obtenção de subprodutos de resíduos vegetais, o uso de temperaturas de secagem inferiores à 100°C reduz, porém não elimina a capacidade antioxidante e efeitos antitumorais observados em produtos obtidos a partir da beterraba *in natura*, já explorados na literatura.

Considerando que há o uso de substâncias potencialmente mutagênicas como defensivos agrícolas no cultivo convencional, o tratamento térmico é capaz de tornar o consumo da farinha de casca de beterraba seguro do ponto de vista mutagênico.

Considerando que há uma forte capacidade antioxidante da beterraba reportada na literatura científica e que o estresse oxidativo pode ser responsável por mutações no DNA que levam ao desenvolvimento de câncer, é possível que bioativos provenientes da farinha de casca de beterraba exerçam atividade antimutagênica por quimioproteção do DNA contra o estresse oxidativo.

Considerando que a evasão de mecanismos apoptóticos é uma característica marcante em células de câncer e que compostos bioativos diversos identificados na beterraba podem influenciar na apoptose, é possível que a farinha de casca de beterraba promova a apoptose celular.

CAPÍTULO III - OBJETIVOS

1. Objetivo geral

Avaliar *in vitro* a capacidade antitumoral de bioativos obtidos de farinha da beterraba sobre linhagens de câncer de mama.

2. Objetivos específicos

- Produzir extratos ou soluções a partir da farinha de caca de beterraba para aplicação em testes celulares;
- Avaliar a influência destes extratos ou soluções sobre a viabilidade celular e a capacidade de formação de clones de células das linhagens MCF-7 e MDA-MB-231, modelos para câncer de mama;
- Avaliar o perfil químico de betalainas e outros compostos bioativos através de abordagem metabolômica;
- Investigar a capacidade mutagênica e antimutagênica destes extratos ou soluções através de modelo bacteriano adaptado do Teste de Ames;
- Investigar as propriedades farmacocinéticas de moléculas identificadas no extrato produzido através de abordagens *in silico*.

CAPÍTULO VII – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura demonstra que resíduos vegetais são uma grande fonte de fitoquímicos bioativos de interesse para o tratamento de diversas patologias, sendo essa uma fonte barata de obtenção, considerando que essa matriz vegetal é usualmente descartada por motivos diversos, propiciando ainda uma redução do impacto ambiental gerado pelo descarte.

O uso dos resíduos vegetais como matriz para a obtenção desses compostos perpassa pela aplicação de técnicas diversas de conservação da matriz orgânica e de extração, isolamento e preservação dos compostos, a fim de possibilitar o estoque, transporte e uso em formulações diversas.

Na presente Tese, ao utilizar a casca da beterraba como matriz orgânica fonte de compostos bioativos e a técnica de secagem em estufa como fonte de preservação da matriz orgânica, colocamos essas premissas em teste, avaliando posteriormente a permanência da atividade antitumoral já relatada na literatura para a *Beta vulgaris* L.

As informações apresentadas anteriormente revelam um grande potencial para a farinha de casca de beterraba como matéria-prima para a obtenção de fitoquímicos diversos e as betalainas como compostos antitumorais para a formulação de nutracêuticos e/ou fármacos, adjuvantes no tratamento convencional do câncer de mama, em especial o fenótipo triplo negativo.

Os resultados observados na presente Tese são provenientes de um extrato estéril, produzido pelo autor, e que apresenta fitoquímicos diversos e betalainas e, portanto, consideramos os resultados como um efeito sinérgico de todos os compostos presentes no extrato. Dentre os fitoquímicos encontramos curaminas, flavonoides e derivados, alcaloides isoquinolínicos, entre outros, e que já possuem atividade antitumoral individual reportada na literatura, bem como as betalainas.

Fitoquímicos em geral como polifenóis diversos, cumarinas, entre outros, são relatados como compostos de baixa biodisponibilidade, o que dificulta seu uso por via oral como adjuvantes em tratamentos antitumorais.

Em relação as betalainas, há ainda grandes dificuldades a serem superadas, visto sua baixa biodisponibilidade e rápida excreção renal. Para contornar estes desafios, é necessário desenvolver métodos que favoreçam a absorção das betalainas, seja por conjugados moleculares, seja por técnicas de encapsulação e proteção molecular permitindo uma maior bioacessibilidade destes pigmentos, o que, em teoria, favoreceria sua absorção.

Até o presente momento, não foram encontradas informações sobre efeitos tóxicos do consumo de betalainas. Isso provavelmente se deve à rápida excreção renal, que impede o acúmulo destes pigmentos no organismo humano. No entanto, considerando a possibilidade da formulação de agregados moleculares, será necessário avaliar o clearance renal, bem como a possibilidade de acúmulo destes pigmentos em tecidos tumorais alvo e em tecidos periféricos, a fim de avaliar os efeitos de citotoxicidade, especificamente a ação antitumoral e a possibilidade de citotoxicidade para células não tumorais.

Para além do estudo da toxicidade das betalainas, é necessário ainda assegurar a ausência de efeitos deletérios à saúde proveniente dos demais componentes do extrato produzido. Este estudo pode ser realizado de duas formas distintas: na primeira, utiliza-se o extrato como um todo, abordagem que demonstra a segurança do extrato, mas que não correlaciona seus efeitos a moléculas específicas, sendo esta segunda parte uma falha indesejável; na segunda abordagem, realiza-se o estudo da composição molecular geral do extrato, com a pretensão de estudar seus componentes separadamente, trazendo informações de eficácia e segurança do extrato e seus componentes. Ambos os métodos possuem suas vantagens e desvantagens que devem ser levados em consideração.

Por fim, deve-se ressaltar a importância de realizar um planejamento adequado para a prospecção de compostos bioativos com atividade antitumoral em resíduos vegetais. É necessário assegurar a qualidade da matéria-prima e dos métodos de extração utilizados, além de também verificar a segurança toxicológica e mutagênica do extrato produzido, e averiguar a eficácia e aplicabilidade real dos bioativos estudados e extratos produzidos, uma vez que o objetivo final é o uso como adjuvante no tratamento de pacientes com câncer que já se encontram em vulnerabilidade causada pela doença.

CAPÍTULO VIII – CONCLUSÃO

A farinha de casca de beterraba (*Beta vulgaris* L.) mostrou-se um subproduto com grande capacidade antioxidante *in vitro*, sugerindo um ajuste do estado redox de células tumorais que possivelmente contribui para a apoptose celular por mecanismos epigenéticos. Além disso, a segurança do ponto de vista da mutagênese do seu extrato foi constatada, possibilitando o seu uso. O extrato exibiu diversas classes de fitoquímicos, com vários deles descritos na literatura como compostos antitumorais por mecanismos variados. Fica evidente que o extrato pode assumir atividade antitumoral *in vitro* contra células de câncer de mama, possivelmente devido a ativação concomitante de vias metabólicas de controle de ciclo celular, sugerindo sinergismos de ação. Importante ressaltar que o extrato produzido foi obtido a partir de um produto elaborado com base em um resíduo vegetal. Além disso, o processamento térmico aplicado para a produção da farinha não foi suficiente para a extinção do efeito antitumoral reportado em outros estudos que utilizaram extratos da beterraba *in natura* ou sucos obtidos desta matéria-prima. Por fim, as betalainas revelaram-se como compostos possível atividade antitumoral, porém com propriedades farmacocinéticas insuficientes, como baixa biodisponibilidade, baixo tempo de meia vida no sangue e alto clearance renal, o que dificultam seu uso como adjuvante terapêutico. No entanto, estudos adicionais podem ser realizados para a modificação molecular desses pigmentos a fim de aumentar a biodisponibilidade, ampliar o tempo de meia vida no sangue e reduzir o clearance renal, bem como estudos toxicológicos para verificar a segurança de tais modificações. Por fim, a farinha de casca de beterraba foi classificada como um subproduto seguro para o consumo e com propriedades antioxidantes e antitumorais contra o câncer de mama dignas de nota.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic compound content and sensory properties of cookies produced from organic grape peel (*Vitis labrusca*) flour. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 4, p. 1215–1224, 2019.

AHMADIANKIA, N.; BAGHERI, M.; FAZLI, M. Gene expression changes in pomegranate peel extract-treated triple-negative breast cancer cells. **Reports of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 7, n. 1, p. 102–109, 2018.

AKAN, S.; TUNA GUNES, N.; ERKAN, M. Red beetroot: Health benefits, production techniques, and quality maintaining for food industry. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 10, 2021.

ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da Biologia Celular**. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

ANTONIO, A. D. S. et al. Chemophenetic study of *Ocotea canaliculata* (Lauraceae) by UHPLC–HRMS and GNPS. **Natural Product Research**, 2020.

ARBIZU-BERROCAL, S. H. et al. Polyphenols from mango (*Mangifera indica* L.) modulate PI3K/AKT/mTOR-associated micro-RNAs and reduce inflammation in non-cancer and induce cell death in breast cancer cells. **Journal of Functional Foods**, v. 55, n. January, p. 9–16, 2019.

BABARYKIN, D. et al. Red Beet (*Beta vulgaris*) Impact on Human Health. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 07, n. 03, p. 61–79, 2019.

BAHRAMSOLTANI, R. et al. Dietary polyphenols for atherosclerosis: A comprehensive review and future perspectives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 114–132, 2019.

BILIR, E. K. et al. Cytotoxic effects of rhododendron ponticum l. Extract on prostate carcinoma and Adenocarcinoma cell line (DU145, PC3). **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 24, n. 3, p. 451–457, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n.

1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas**Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEA. [s.l: s.n.].

CACCIOLA, N. A. et al. Untargeted Characterization of Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) Shell Polyphenol Extract: A Valued Bioresource for Prostate Cancer Cell Growth Inhibition. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 1–14, 2020.

CARABAJAL, M. P. A. et al. Antigenotoxic, antiproliferative and antimetastatic properties of a combination of native medicinal plants from Argentina. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, n. October 2020, 2021.

CHHIKARA, N. et al. Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. **Food Chemistry**, v. 272, n. February 2018, p. 192–200, 2019.

COIMBRA, P. P. S. et al. Antioxidant Capacity, Antitumor Activity and Metabolomic Profile of a Beetroot Peel Flour. **Metabolites**, v. 13, n. 2, 2023.

COMSA, S.; CIMPEAN, M. A.; RAICA, M. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. **Anticancer Research**, v. 35, p. 3147–3154, 2015.

DA SILVEIRA, M. S.; BEDÊ, T. P.; NICOMEDES, W. H. DOS S. Aproveitamento Integral de Alimentos: Uma possível ferramenta de consumo sustentável / Integral use of food: A possible tool for sustainable consumption. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 8, p. 80561–80585, 2021.

DESHMUKH, A. W.; DESHMUKH, S. A. Herbal Wine Production From Fruits and Vegetable Wastes and Peels. **International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology**, v. 5, n. 9, p. 129–133, 2021.

EL-BELTAGI, H. S. et al. Evaluation of some chemical constituents, antioxidant, antibacterial and anticancer activities of beta Vulgaris L. Root. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 27, n. 9, p. 6369–6378, 2018.

FERREIRA, M. S. L. et al. Formulation and characterization of functional foods

based on fruit and vegetable residue flour. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 822–830, 20 fev. 2015.

FORRESTER, S. J. et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. **Circulation Research**, v. 122, n. 6, p. 877–902, 2018.

FOSTER, K. et al. Selective cytotoxic and anti-metastatic activity in DU-145 prostate cancer cells induced by *Annona muricata* L. bark extract and phytochemical, annonacin. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, p. 1–15, 2020.

GALVÃO, B. V. D. **Avaliação da eficácia e segurança de produtos naturais e sintéticos ativos sobre o Trypanosoma cruzi**. 118 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes: Universidade Do Estado do Rio de Janeiro, 2022.

GIROTTI, F.; ALIBARDI, L.; COSSU, R. Food waste generation and industrial uses: A review. **Waste Management**, v. 45, n. June, p. 32–41, 2015.

GOLDSTEIN, A. DA C. et al. In vitro genotoxicity assessment of graphene quantum dots nanoparticles: A metabolism-dependent response. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 885, n. September 2021, p. 503563, 2023.

GOTHAI, S. et al. Natural phyto-bioactive compounds for the treatment of type 2 diabetes: Inflammation as a target. **Nutrients**, v. 8, n. 8, 2016.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. 1ª Ed. Dig ed. São Paulo: [s.n.]. v. 9

KIM, M. Y. et al. Induction of apoptosis by citrus unshiu peel in human breast cancer MCF-7 cells: Involvement of ROS-Dependent activation of AMPK. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 41, n. 5, p. 713–721, 2018.

KUMAR, P. S. et al. Antioxidant potential and antitumour activities of Nendran banana peels in breast cancer cell line. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n. 3, p. 464–473, 2019.

LAGEIRO, M. M. et al. Assessment of gamma oryzanol variability, an attractive rice bran bioactive compound. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 32, n. 1, p. 38–46, 2020.

LARROSA, A. P. Q.; OTERO, D. M. Flour made from fruit by-products: Characteristics, processing conditions, and applications. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 5, p. 1–22, 2021.

LECHNER, J. F.; STONER, G. D. Red beetroot and betalains as cancer chemopreventative agents. **Molecules**, v. 24, n. 8, 2019.

LEVY, D. D. et al. Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test). **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 848, n. August, p. 403074, 2019.

LILIANA, C.; OANA-VIORELA, N. Red Beetroot: Composition and Health Effects - A Review. **Journal of Nutritional Medicine and Diet Care**, v. 5, n. 2, 18 jun. 2020.

LIN, C. S. K. et al. Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. **Energy & Environmental Science**, v. 6, n. 2, p. 426, 2013.

LIU, S. et al. Removal of bound polyphenols and its effect on antioxidant and prebiotics properties of carrot dietary fiber. **Food Hydrocolloids**, v. 93, n. August 2018, p. 284–292, 2019.

LÓPEZ-SUÁREZ, A. Burden of cancer attributable to obesity, type 2 diabetes and associated risk factors. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 92, p. 136–146, 2019.

MANCINI, M. C. S. et al. Beetroot and leaf extracts present protective effects against prostate cancer cells, inhibiting cell proliferation, migration, and growth signaling pathways. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 5241–5258, 2021.

MAQBOOL, H. et al. Antibacterial Activity of Beetroot Peel and Whole Radish Extract by Modified Well Diffusion Assay. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 9, n. 1, p. 1222–1231, 2020.

MASTINU, A. et al. Gamma-oryzanol Prevents LPS-induced Brain Inflammation and Cognitive Impairment in Adult Mice. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 728, 29 mar. 2019.

MISTRIANU, S. L. et al. Beetroot By-Product as a Functional Ingredient for Obtaining Value-Added Mayonnaise. **Processes**, v. 10, n. 2, 2022.

NAGAHASHI, M. et al. Targeting the SphK1/S1P/S1PR1 Axis That Links Obesity, Chronic Inflammation, and Breast Cancer Metastasis. **Cancer Research**, v. 78, n. 7, p. 1713–1725, 1 abr. 2018.

NIGRA, A. D. et al. Antitumor Effects of Freeze-Dried Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Extracts on Breast Cancer Cell Lines. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–16, 18 maio 2021.

OCDE, O. **Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test**. [s.l.] OECD Publishing, 2016.

OECD. Guideline for testing of chemicals Test N° 471: Bacterial Reverse Mutation Test. **Oecd Guideline for Testing of Chemicals**, n. 471, p. 24, 2020.

OMOLOLA, A. O. et al. Optimization of Color and Thermal Properties of Sweet Cassava (*Manihot esculenta* Crantz Var . UVLNR 0005) Flour Using Response Surface Methodology. **Asian Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 3, p. 57–65, 2017.

OSHI, M. et al. Intra-tumoral angiogenesis is associated with inflammation, immune reaction and metastatic recurrence in breast cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 1–16, 2020.

PADILHA, M. D. ROS. D. F. et al. **Alimentos Elaborados Com Partes Não Convencionais: Avaliação Do Conhecimento Da Comunidade a Respeito Do Assunto**. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica. **Anais...**2015. Disponível em: <<http://www.journals.ufpe.br/index.php/apca/article/view/1122>>

PINAFFI, A. C. DA C. et al. Insoluble-bound polyphenols released from guarana powder: Inhibition of alpha-glucosidase and proanthocyanidin profile. **Molecules**, v. 25, n. 3, 2020.

PLUSKAL, T. et al. MZmine 2: Modular framework for processing, visualizing, and analyzing mass spectrometry-based molecular profile data. **BMC Bioinformatics**, v.

11, n. 1, p. 395, 23 dez. 2010.

PRIOR, R. L. et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273–3279, 2003.

RAWDKUEN, S.; KAEWPRACHU, P. Valorization of Food Processing By-Products as Smart Food Packaging Materials and Its Application. In: **Food Preservation and Waste Exploitation**. [s.l.] IntechOpen, 2020.

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World Journal of Oncology**, v. 10, n. 2, p. 63–89, jan. 2019.

RUFINO, M. DO S. et al. Comunicado Técnico 128: Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. p. 0–3, 2007.

SAFARI, F. et al. Evaluation of Anti-cancer and Pro-apoptotic Activities of Iranian Green Tea Extract Against A549,PC3, and MCF-7 Cancer Cell Lines. **International Journal of Basic Science in Medicine**, v. 4, n. 3, p. 113–118, 2019.

SAGAR, N. A. et al. Fruit and Vegetable Waste: Bioactive Compounds, Their Extraction, and Possible Utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 512–531, maio 2018.

SALAMATULLAH, A. M. et al. Bioactive and antimicrobial properties of oven-dried beetroot (pulp and peel) using different solvents. **Processes**, v. 9, n. 4, 2021.

ŠEREMET, D. et al. Valorization of banana and red beetroot peels: Determination of basic macrocomponent composition, application of novel extraction methodology and assessment of biological activity in vitro. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, n. 11, 2020.

SHETTY, H. R. Substitution of Synthetic Colorants by Betalain Pigment Extracted from Beetroot Peels in Baked Foods: Muffins. **The Bombay Technologist**, v. 67, n. 1, 2020.

SINGH, V. et al. Exploration of therapeutic applicability and different signaling

mechanism of various phytopharmacological agents for treatment of breast cancer. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 139, n. March, p. 111584, 2021.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 2021.

SUTOR-ŚWIEŻY, K. et al. Dehydrogenation of Betacyanins in Heated Betalain-Rich Extracts of Red Beet (*Beta vulgaris* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, 2022.

TAN, M. L.; HAMID, S. B. S. Beetroot as a Potential Functional Food for Cancer Chemoprevention, a Narrative Review. **Journal of Cancer Prevention**, v. 26, n. 1, p. 1–17, 2021.

THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006.

UNITED NATIONS. **Sustainable Development Goals**. Disponível em: <<https://sdgs.un.org/>>.

VERMA, D. K.; SRIVASTAV, P. P. Bioactive compounds of rice (*Oryza sativa* L.): Review on paradigm and its potential benefit in human health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 97, n. November 2019, p. 355–365, 2020.

VILAS-BOAS, A. A.; PINTADO, M.; OLIVEIRA, A. L. S. Natural bioactive compounds from food waste: Toxicity and safety concerns. **Foods**, v. 10, n. 7, 2021.

WAKS, A. G.; WINER, E. P. Breast Cancer Treatment: A Review. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 321, n. 3, p. 288–300, 2019.

WANG, G. et al. Genetics and biology of prostate cancer. **Genes and Development**, v. 32, n. 17–18, p. 1105–1140, 2018.

WANG, M. et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828–837, 2016.

WELLENSTEIN, M. D. et al. Loss of p53 triggers WNT-dependent systemic

inflammation to drive breast cancer metastasis. **Nature**, v. 572, n. 7770, p. 538–542, 2019.

ZANOTTO, D. L.; BELLAYER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. p. 2–6, 1996.

ZHANG, Y. et al. Identification of Five Cytotoxicity-Related Genes Involved in the Progression of Triple-Negative Breast Cancer. **Frontiers in Genetics**, v. 12, n. January, p. 1–12, 2022.

ZIN, M. M.; BÁNVÖLGYI, S. Portfolio of Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Peel Extracts Concentrated by Nanofiltration Membrane. **International Journal of Food Studies**, v. 10, n. 2, p. 334–345, 2021.