

Alyne Lizane Cardoso

EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) NOS BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Título de Mestre em Nutrição.

Orientador: Prof^a. Dra. Patricia Faria Di Pietro.

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Cardoso, Alyne Lizane

Efeito do consumo agudo do fruto juçara (*Euterpe edulis*) nos biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis / Alyne Lizane Cardoso ; orientadora, Patricia Faria Di Pietro - Florianópolis, SC, 2013.
107 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

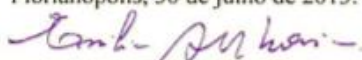
Inclui referências

1. Nutrição. 2. Estresse oxidativo. 3. Atividade antioxidante. 4. Fruto juçara (*Euterpe edulis*). I. Faria Di Pietro, Patricia. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) NOS BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Nutrição”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 30 de julho de 2013.

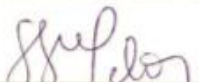


Prof. Dr.ª Emilia Addison Machado Moreira
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Banca examinadora:



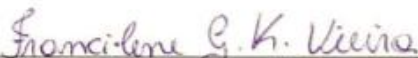
Prof.ª Dr.ª Patricia Faria Di Pietro
Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC- Presidente



Prof. Dr.ª Sandra Soares Melo
Universidade do Vale do Itajaí -UNIVALI



Prof. Dr. Edson Luiz da Silva
Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC



Prof.ª Dr.ª Francilene Gracieli Kunradi Vieira
Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

Dedico este trabalho aos amores da minha vida: meus pais Carlos e Teresinha, meus irmãos Leonardo e Felipe, minhas sobrinhas, Livia e Letícia e a inesquecível Vó Iracema, por todo carinho, luz e paciência a cada passo desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Nossa Senhora e Santa Catarina de Alexandria, protetora dos estudantes, a qual sou devota, agradeço por toda luz e serenidade nos momentos em que precisei.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior – CAPES - pela concessão da bolsa de estudos. À instituição UFSC e ao programa de Pós-Graduação de Nutrição (PPGN), por trazerem subsídios para tornar possível a finalização deste projeto. Aos professores do PPGN pelos ensinamentos acadêmicos e lições de vida. Aos professores Edson Luiz da Silva e Roseane Fett, pelos ensinamentos referentes às técnicas bioquímicas, por cederem seus laboratórios em parceria e tornarem possível a realização das análises. Agradeço também aos membros da banca pela atenção e contribuições.

Aos participantes do estudo, aos enfermeiros e funcionários do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU-UFSC) pela disponibilidade e apoio prestado.

À minha orientadora, Patricia Faria Di Pietro, por me acolher em seu grupo de estudos por tanto tempo, por me incentivar e acreditar em meu potencial, por compreender meus defeitos e por ser fonte de motivação nos momentos difíceis. Obrigada pela dedicação e por ser exemplo.

Às colegas de mestrado que o PPGN me concedeu. Tãmanha é minha sorte por ter com quem dividir desafios e multiplicar superaões. Meu muito obrigada pelo conforto de todos os dias, a cada encontro, a cada trabalho, a cada olhar. Aos amigos que o laboratório me trouxe, pela convivência, pelos ensinamentos, crescimento e apoio nas análises. Lavarei comigo muitas lembranças boas. Vocês foram essenciais!

Aos membros do meu querido grupo de estudos GENEIO, àquelas que passaram e às que estão comigo diariamente, em especial Sheyla, Raquel e Elaine meu obrigada pelo carinho sincero, fraterna convivência e encorajamento nos momentos difíceis. À Fran, a quem tanto admiro, pelo aprendizado que me proporciona e pela dedicação.

Aos meus pais, Carlos e Teresinha, meus maiores orgulhos e exemplos de humildade e perseverança. Obrigada pela educação, por todo amor e dedicação. Aos meus irmãos, cunhadas e sobrinhas, por me colocarem o sorriso no rosto e pelas palavras de apoio. Ao Vô Ribeiro, pelos pensamentos positivos e oraões. Obrigada por acreditarem em mim, vocês são meu porto seguro!

Aos meus amigos “da vida” como costume chamar, por aceitarem e compreenderem minhas ausências, por me apoiarem nesta

carreira, por me trazerem tanta alegria e especialmente por recarregarem minhas energias sempre que necessário.

Por fim, agradeço à todos os colegas e professores que, direta ou indiretamente, contribuíram na concretização deste projeto. **Muito obrigada!**

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

O gênero *Euterpe* origina espécies de palmeiras, dentre as quais, deriva a popularmente conhecida juçara (*Euterpe edulis*), encontrada no Brasil. Os frutos de juçara possuem propriedades sensoriais e nutritivas similares às do fruto do açaizeiro. As propriedades benéficas destes frutos têm chamado a atenção de pesquisadores, especialmente pela quantidade de antioxidantes. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do consumo agudo do suco do fruto juçara sobre os biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis. Este estudo de intervenção, caracterizado como um ensaio clínico *cross-over*, utilizando-se o suco de juçara e água como controle. Onze voluntários saudáveis foram avaliados antes e após 1h, 2h e 4h ao consumo do suco e água. Os parâmetros avaliados foram: potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), ácido úrico, glutathione reduzida (GSH), glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e hidroperóxidos lipídicos (HL). Análises de variância para medidas repetidas revelaram efeito significativo do tratamento nos desfechos FRAP e GPx, além de interação significativa entre tipo de tratamento e tempo no parâmetro referente à oxidação lipídica (HL). Foi observada correlação moderada entre FRAP e ácido úrico ($r = 0,31$, $p = 0,03$). A partir das mudanças relativas médias foi observado acréscimo de 21,3% após a 1ª hora de ingestão e 16,1% na 2ª hora no parâmetro GSH. HL diminuiu de 13,5%, 16% e 18,7%, ao longo da 1ª, 2ª e 4ª hora após o consumo do suco. No tempo de 2h de ingestão do suco ocorreu elevação máxima nas atividades de SOD, GPx e CAT, sendo estes de 34,3%, 18% e 8,5% respectivamente. A ingestão do suco de juçara evidenciou efeito do tratamento para o FRAP e atividade enzimática de GPx além de interação e diminuição da peroxidação lipídica ao longo do tempo. Estudos que investiguem as propriedades antioxidantes do fruto juçara no organismo humano bem como a biodisponibilidade de seus flavonoides são necessários.

Palavras-chaves: ensaio clínico, fruto juçara, antocianinas, *Euterpe edulis*, atividade antioxidante.

ABSTRACT

The genus *Euterpe* stems palm species, which derives the popularly known juçara (*Euterpe edulis*), found in Brazil. The juçara fruits have similar nutritional and sensory properties of the fruit of the Acai Palm. The beneficial properties of these fruits have drawn the attention of researchers, especially by the amount of antioxidants. The present study aimed to evaluate the effect of acute consumption of juçara's juice on biomarkers of oxidative stress in healthy subjects. This study intervention is characterized as a cross-over clinical trial, using juçara's juice and water as control. Eleven healthy volunteers were evaluated before and after 1h, 2h and 4h consumption of juice and water. The parameters evaluated were: ferric reducing antioxidant potential (FRAP), uric acid, reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and lipid hydroperoxides (LH). Analyses of variance for repeated measures revealed a significant effect of treatment on outcomes FRAP and GPx, and a significant interaction between type of treatment and time in the parameter related to lipid oxidation (HL). Moderate correlation was observed between FRAP and uric acid ($r = 0.31$, $p = .03$). From the relative average changes it was observed an increase of 21.3% after the 1st hour of ingestion and 16.1% in the 2nd time in parameter GSH. LH decreased 13.5%, 16% and 18.7% over the 1st, 2nd and 4th after drinking the juice. At the time of 2h juice ingestion occurred maximum elevation in the activities of SOD, CAT and GPx, which are 34.3%, 18% and 8.5% respectively. The juice ingestion showed juçara juice treatment effective for the FRAP and enzymatic activity of GPx and interaction of lipid peroxidation and decreased over time. Studies that investigate the antioxidant properties of the fruit juçara in the human body as well as the bioavailability of its flavonoids are needed

Keywords: clinical trial, jussara fruit, anthocyanins, *Euterpe edulis*, antioxidant status.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 4

Figura 1: Mudanças relativas no FRAP, Ácido úrico, GSH e FOX.....	70
Figura 2: Mudanças relativas nas enzimas SOD, GPx, e CAT.....	73

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 2

Quadro 1: Estado da arte referente a estudos que utilizaram como variáveis o efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante de indivíduos saudáveis.....47

CAPÍTULO 3

Quadro 2: Detalhes dos alimentos e bebidas restringidos durante a dieta pobre em antioxidantes53

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Composição de macronutrientes dos frutos de juçara e açaí	35
--	----

CAPÍTULO 4

Tabela 1: Análises de composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara.....	68
---	----

Tabela 2: Concentrações dos parâmetros de atividade antioxidante e oxidação lipídica após as intervenções ao longo do tempo.....	69
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\cdot\text{O}_2$	Superóxido
$\cdot\text{OH}$	Hidroxil
AGP	Ácidos graxos poliinsaturados
AMT	Antocianinas monoméricas totais
AOAC	Association of Official Analytical Chemicals
AT	Acidez titulável
CAP-e	cell-based antioxidant protection in erythrocytes
CAT	Catalase
CT	Colesterol total
DMACA	P-dimetilaminocinamaldeído
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DPPH	radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	equivalente ácido gálico
EAG	Equivalente ao ácido gálico
ECA	Equivalentes a catequina
EDTA	ácido etileno diaminoacético
Eqtrolox	equivalentes de trolox
ER	Espécies reativas
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FOX	Fe^{+3} xlenol Orange
FRAP	Ferric Reducing/Antioxidant Potential
FT	Fenólicos totais
FVT	Flavanóis totais
G6PD	glicose-6-fosfato desidrogenase
GA	Grupo Açai
GJ	Grupo Juçara
GPx	Glutathiona peroxidase
GR	Glutathiona reductase
GSH	Glutathiona reduzida
GSSG	Glutathiona oxidada
GST	glutathiona- S-transferase
H_2O	água
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
HDL	High Density Lipoprotein
$\text{HOO}\cdot$	Hidroperoxil
IL-6	interleucina
IMC	Índice de massa corporal
Kg	quilograma

L[·] Radical lipídico
LDL Low density lipoprotein
LOO[·] Radical peroxil
LOOH Hidroperóxido lipídico
LPO Lipoperoxidação
MDA Malondialdeído
mg miligrama
MS matéria seca
NADPH Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NO[·] Óxido nítrico
O₂ oxigênio molecular
OH[·] Hidroxil
ORAC Oxygen radical absorbance capacity
PM Peso molecular
PSD Polpa seca desengordurada
RL Radical livre
RNA Ácido ribonucléico
RO₂ Peroxil
SOD Superóxido dismutase
TBARS Substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico
TCLE Termo de consentimento livre e esclarecido
TEAC Trolox equivalent antioxidant capacity
TG Triglicerídeos
TPP Trifenilfosfina
TPTZ 2,4,6-tri (2-pyridil)-s-triazina

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	25
1.1 APRESENTAÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	25
1.2 OBJETIVOS.....	28
1.2.1 Objetivo Geral	28
1.2.2 Objetivos Específicos	28
CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO	29
2.1 EUTERPE EDULIS MARTIUS E EUTERPE OLERACEA MARTIUS.....	29
2.1.1 Consumo de frutos de juçara e ou açaí	30
2.1.2 Processamento dos frutos de juçara e dos frutos do açaizeiro	31
2.1.2.1 Efeito da pasteurização sobre as antocianinas.....	32
2.1.3 Composição dos frutos de juçara e do açaí	33
2.2 RADICAIS LIVRES, ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO.....	36
2.2.1 Radicais livres	36
2.2.2 Antioxidantes	39
2.2.3 Estresse oxidativo	42
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	42
CAPÍTULO 3 - MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	49
3.1.1 Obtenção do fruto juçara	49
3.1.2 Composição química	49
3.1.3 Determinação de fenólicos totais (FT)	50
3.1.4 Determinação de antocianinas monoméricas totais (AMT)	50
3.1.5 Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH	51
3.2 ESTUDO IN VIVO.....	51
3.2.1 Teste	51
3.2.2 Delineamento do estudo	51
3.2.3 Tamanho e critérios para seleção da amostra	52
3.2.4 Procedimentos éticos	53
3.2.5 Caracterização nutricional do grupo de estudo	53
3.2.6 Monitoramento do estado de saúde dos participantes	54
3.2.7 Análises bioquímicas	54
3.2.7.1 Coleta e tratamento das amostras sanguíneas.....	54
3.2.7.2 Atividade antioxidante	56

3.2.7.3 Ácido úrico.....	56
3.2.7.4 Glutationa reduzida.....	56
3.2.7.5 Glutationa peroxidase.....	56
3.2.7.6 Catalase.....	57
3.2.7.7 Superóxido dismutase.....	57
3.2.7.8 Hidroperóxidos lipídicos.....	58
3.3 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	58
CAPÍTULO 4 – ARTIGO ORIGINAL	60
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
REFERÊNCIAS	83
APÊNCIDES	99
ANEXOS	106

INTRODUÇÃO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO E JUSTIFICATIVA

O gênero *Euterpe* origina espécies de palmeiras, dentre as quais, deriva a popularmente conhecida juçara (*Euterpe edulis*), comumente encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o Norte do Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 1998; EPAGRI, 1998). Devido à exploração extrativista de seu palmito, a palmeira juçara corre risco de extinção, já que a retirada do palmito culmina na morte da planta, enquanto que com a coleta do fruto não há a necessidade de cortá-la. Desta forma, o uso do fruto na alimentação humana, apresenta-se como uma alternativa de grande potencial ambiental e econômico e nutricional (SILVA; BARRETTO; SERÓDIO, 2004; COSTA et al., 2008, BORGES et al., 2013).

A produção da emulsão proveniente do fruto processado de juçara tem atraído à atenção de produtores rurais em Santa Catarina, como uma alternativa de renda para as pequenas propriedades rurais familiares, constando experiências formais e informais de fabricação e comercialização também no Rio Grande do Sul e São Paulo (MAC FADDEN, 2005; SILVA, 2005; SCHULTZ, 2008).

Os frutos de juçara possuem propriedades sensoriais e nutritivas similares aos frutos do açazeiro (palmeira chamada cientificamente de *Euterpe oleracea*) (SILVA; BARRETTO; SERÓDIO, 2004; BORGES et al., 2013). Além disso, sofrem mesmo processamento que estes frutos para obtenção de uma emulsão que é destinada à comercialização. Por estes motivos, alguns autores (MAC FADDEN, 2005; SCHULTZ, 2008; BORGES, 2010) denominam açai para ambas as emulsões, provenientes dos frutos das palmeiras *Euterpe edulis* e *Euterpe oleracea*.

De acordo com a legislação brasileira açai é o produto extraído da parte comestível dos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*) após amolecimento através de processos tecnológicos, por meios mecânicos sem filtração (BRASIL, 2000). Segundo Rogez (2000) açai é uma emulsão obtida do processamento dos frutos das palmeiras do gênero *Euterpe* Martius, nativas do Brasil, que se caracteriza pelo elevado teor de lipídios e antocianinas (ROGEZ, 2000; LORENZI et al., 2006; SCHULTZ, 2008). A demanda de açai em nível nacional cresceu muito a partir dos anos 90, especialmente por sua descoberta pelo público

jovem de classe média a alta do Brasil extra-amazônico, como busca de um alimento exótico e altamente energético (ROGEZ, 2000). Inúmeros benefícios são relacionados ao consumo de açaí devido ao seu efeito antioxidante, antienvhecimento, antiinflamatório, entre outros (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012)

As possíveis propriedades benéficas dos frutos juçara, também têm chamado a atenção de pesquisadores, especialmente pela grande quantidade de antioxidantes encontrada (IADEROZA et al., 1992; SCHULTZ, 2008; LIMA et al., 2012; BORGES et al., 2013). Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*, em cultura de células Vero, uma linhagem de células de origem renal, demonstrou efeito citoprotetor e antioxidante da polpa desengordurada e óleo de juçara (BORGES et al., 2013).

A proteção do organismo contra os danos oxidativos abrange um sistema de defesa antioxidante, que pode ser produzido pelo próprio corpo ou absorvido através da dieta (HALLIWELL, 1996a), atuando contra o excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de espécies reativas de nitrogênio (ERN). Estas espécies constituem substâncias reativas e instáveis, geradas *in vivo*, tanto em condições fisiológicas quanto em condições patológicas. Quando atuam como agentes oxidantes, as ERO e ERN causam efeitos prejudiciais, tais como a oxidação do DNA, proteínas, aminoácidos, lipídeos e outras biomoléculas, resultando em uma variedade de consequências biológicas, incluindo lesão tecidual, mutação, carcinogênese, comprometimento do sistema imunológico e morte celular (STOHS, 1996; MCCORD, 2000).

A partir da dieta, o efeito protetor exercido por alguns alimentos tem sido atribuído principalmente à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, beta-caroteno, vitamina C e vitamina E (HUANG et al., 2007; GARAVELLO et al., 2007; AGUDO et al., 2007).

Os compostos fenólicos, constituintes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, são produtos secundários do metabolismo vegetal que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo contra o estresse oxidativo (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). As antocianinas são os principais antioxidantes do fruto juçara, as quais são pigmentos pertencentes à família dos flavonoides (IADEROZA et al., 1992; BORGES et al., 2011). A atividade antioxidante destes compostos ocorre através da

doação de elétrons ou átomo de hidrogênio de sua hidroxila às espécies reativas (MOTOHASHI; SAKAGAMI, 2009).

Neste contexto, alguns estudos procuraram comparar a composição de compostos antioxidantes entre açaí e frutos de juçara. Segundo Iaderoza e colaboradores (1992), o conteúdo em antocianinas, pigmento da família dos flavonóides, nos frutos de juçara apresentam concentração quatro vezes superior aos frutos de açaizeiro do norte do Brasil. Tais achados estão de acordo com os estudos de Schultz (2008) e Borges (2010) que encontraram 81% a mais de compostos fenólicos e 353% a mais de antocianinas nos frutos de juçara comparados ao açaí. Ponderando a similaridade entre frutos juçara e os frutos provenientes do açaizeiro, ressalta-se que poucos estudos têm avaliado o efeito do consumo agudo de açaí sobre o potencial antioxidante e os danos oxidativos no sangue de indivíduos saudáveis. Jensen e colaboradores (2008) encontraram aumento da capacidade antioxidante plasmática e diminuição da peroxidação lipídica após o consumo agudo de suco rico em antioxidantes, onde o maior constituinte era o açaí, enquanto Mertens-Talcott e colaboradores (2008) observaram aumento da capacidade antioxidante plasmática duas horas após o consumo de polpa de açaí.

Especula-se que o fruto juçara venha a ser considerado um “super fruto” devido sua composição nutricional e teor de antioxidantes. A avaliação toxicológica na identificação de efeitos adversos sobre a saúde humana obteve resultados positivos indicando que a polpa de juçara cumpre requisitos para o avanço do desenvolvimento de novos medicamentos, cosméticos e alimentos (FELZENSZWALB et al., 2013). No entanto, destaca-se que até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura referentes ao efeito do consumo dos frutos juçara sobre a atividade antioxidante e a proteção contra danos oxidativos em humanos.

Considerando o presente exposto, o estudo justifica-se principalmente pela importância da valorização de novas fontes alimentares ricas em antioxidantes, visto o potencial benefício do consumo de alimentos ricos em antioxidantes sobre a saúde. Além disso, destaca-se a promoção destes alimentos perante a população, a ausência de estudos até o presente momento em humanos, ponderando ainda o impacto ambiental e econômico do fruto da juçara, impulsionando possivelmente a exploração deste fruto no Brasil.

Sendo assim, neste estudo foi elaborada a seguinte pergunta de partida: Qual é o efeito do consumo agudo do fruto juçara (*Euterpe*

edulis) na atividade antioxidante e biomarcador de dano oxidativo em indivíduos saudáveis?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do consumo agudo, a partir de uma intervenção alimentar única, do fruto juçara (*Euterpe edulis*) sobre a capacidade antioxidante e biomarcador de dano oxidativo em indivíduos saudáveis, antes e após 1h, 2h e 4h de ingestão.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Realizar a caracterização química, teor de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e atividade antioxidante pelo parâmetro DPPH, do fruto juçara;

Analisar o efeito do fruto de juçara sobre a:

- atividade antioxidante sérica, ácido úrico e glutathione reduzida eritrocitária;
- atividade antioxidante enzimática através das dosagens de catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase eritrocitárias;
- oxidação lipídica sérica, através da concentração dos hidroperóxidos lipídicos.

CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EUTERPE EDULIS MARTIUS E EUTERPE OLERACEA MARTIUS

A espécie de palmeira chamada *Euterpe edulis* é encontrada na Mata Atlântica e se distribui do Norte até o Sul do Brasil, com destaque para a região litorânea, desde o Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul (REITZ; KLEIN; REIS, 1978; HENDERSON, 2000; LORENZI et al., 2006; SCHIRMANN, 2009; CALLEGARI, 2003; MAC FADDEN, 2005; SILVA, 2005). Além disso, ocupa também o nordeste da Argentina e sudeste do Paraguai, em florestas tropicais entre o nível do mar e até 1000 metros de altitude (HENDERSON, 2000; CALLEGARI, 2003; MAC FADDEN, 2005; SILVA, 2005).

A palmeira *Euterpe edulis* é conhecida popularmente como palmitreiro juçara, jiçara, ou ripa. O palmitreiro caracteriza-se por produzir um palmito de grande qualidade, com valor econômico altamente elevado e consumo relevante (MAC FADDEN, 2005; MARTINS-CORDER, et al. 2006; BORGES, 2010). A exploração do palmito acarreta risco de extinção da espécie, já que esta é uma planta que não rebrota e seu corte causa a morte da palmeira (MARTINS-CORDER, et al. 2006; COSTA et al., 2008). Recentemente, a procura pelo palmito deu lugar ao emergente interesse pelos frutos da palmeira *Euterpe edulis*, sendo estes considerados fontes promissoras de antioxidantes, tendo grande similaridade em aparência aos frutos da palmeira *Euterpe oleracea* (BORGES et al., 2013).

A exploração dos frutos juçara permite que a palmeira não seja cortada para a colheita, como ocorre com a produção de palmito (MAC FADDEN, 2005; SILVA, 2005; SCHULTZ, 2008). Os benefícios ambientais podem ser múltiplos com a implementação de um programa de manejo dos frutos adequado, como a recuperação e conservação das florestas e maior abundância de alimento para a fauna polinizadora e dispersora, entre outros aspectos (COSTA et al., 2006). Além disso, o desenvolvimento de agroflorestas, com foco na palmeira juçara, pode alavancar a produção de frutos potencializando assim, acesso a mercados e geração de renda. Os frutos após retirada da polpa podem ainda fornecer sementes viáveis de sua utilização, promovendo assim a própria espécie através do repovoamento de áreas onde já foi extinta (COSTA et al., 2008).

Recentemente, vem sendo dada atenção especial ao potencial do beneficiamento e produção de polpa do fruto da palmeira juçara (*Euterpe edulis*), similar aos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*), produzido na Amazônia. Esta produção encontra-se em fase de fomentação no panorama nacional, com relevância para as regiões sul, nos estados de Santa Catarina e Paraná, e sudeste, no estado de São Paulo (SILVA; BARRETTO; SERÓDIO, 2004; MAC FADEN, 2005; SCHULTZ 2008; COSTA et al., 2008). Em outros estados, como a região sul da Bahia, a produção de polpa de juçara é uma atividade nova, sendo esta, bastante aceita pela população baiana, que a considera mais doce do que o açaí, segundo trabalho de Silva, Barreto e Serôdio (2004).

Os frutos da palmeira *Euterpe edulis* possuem propriedades sensoriais e nutritivas similares aos frutos provenientes de outras espécies do mesmo gênero *Euterpe*, como a *Euterpe oleracea* (SILVA, 2005; BORGES et al., 2013). Os frutos pertencentes às palmeiras *Euterpe edulis* e *Euterpe oleracea*, são arredondados, drupáceos, de cor violáceo-púrpura, quase negra. Cada fruto possui um caroço e uma fina camada de polpa constituída pelo epicarpo e a parte externa do mesocarpo, os quais podem formar extensos cachos. A parte interna do mesocarpo é fibrosa e está soldada ao endocarpo lenhoso (REITZ; KLEIN; REIS, 1978; ROGEZ, 2000; SCHIRMANN, 2009). Desta forma, alguns autores utilizam o termo “açaí” para a emulsão de frutas do gênero *Euterpe*, sejam estas provenientes da *Euterpe oleracea* ou *Euterpe edulis* (MAC FADDEN, 2005; SCHULTZ, 2008; SCHIRMANN, 2009). No entanto, a legislação brasileira reconhece como açaí, o produto extraído da parte comestível dos frutos somente do açazeiro (*Euterpe oleracea*) (BRASIL, 2000).

A espécie de palmeira *Euterpe oleracea* é comum na região do estuário amazônico, nos Estados do Pará, Maranhão e Amapá, em solos bastante úmidos e é utilizada principalmente para a produção de açaí (ROGEZ, 2000; LORENZI et al., 2006; SCHULTZ, 2008).

2.1.1 Consumo de frutos de juçara e ou açaí

O açaí faz parte dos hábitos alimentares indígenas, o que disseminou este consumo às populações rurais do norte do Brasil, implantando-se até as cidades, contemplando atualmente a alimentação do povo desta região (ROGEZ, 2000).

No estuário amazônico, o açaí, produzido principalmente a partir dos frutos do açazeiro, é um alimento muito popular, considerado

o segundo principal alimento desta região, ficando atrás somente da farinha de mandioca. É consumido frequentemente acompanhado de farinha de mandioca ou de tapioca como mingau, e ainda como acompanhamento para peixes, camarão, arroz, feijão, charque e demais pratos da culinária regional, como sorvete e cremes (muito doce) (ROGEZ, 2000).

Em outras regiões do país, o consumo de açaí ocorreu especialmente a partir dos anos 90, devido à descoberta deste alimento pelo público jovem, de classe média a alta, geralmente praticantes de atividade física, adeptos de uma alimentação saudável que proporcione saúde e bem-estar (ROGEZ, 2000). Tradicionalmente no Brasil a polpa do açaí é consumida na forma de suco, tendo também várias aplicações na culinária como em tortas, geléias e licores (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, o açaí é consumido principalmente entre as refeições, antes de praticar esporte ou logo depois, havendo maior consumo durante os meses de dezembro a março (período de verão e de férias) (ROGEZ, 2000). No Brasil extra-amazônico, o açaí é misturado a diversas frutas, sendo consumido geralmente gelado (GUIMARÃES, 1999; ROGEZ, 2000).

Cabe ressaltar que o termo açaí pode estar sendo generalizado, já que a proveniência dos frutos pode por vezes não ser referida, quando à comercialização deste produto. Desta forma, pode estar havendo consumo do fruto de juçara, além de açaí, dependendo de onde ocorre esta produção, com destaque para as regiões sul e sudeste.

2.1.2 Processamento dos frutos de juçara e dos frutos do açaizeiro

Os frutos provenientes do gênero *Euterpe*, não são destinados ao consumo *in natura* devido à pequena proporção de polpa que apresentam. Os frutos de juçara possuem proporção de polpa em torno de 15% do peso dos frutos (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004; SCHULTZ, 2008), já nos frutos do açaizeiro esta proporção encontra-se em torno de 12% a 17% do peso total dos frutos (ROGEZ, 2000; BACELLAR et al., 2006). Para o consumo humano, os frutos devem então passar por processamentos, que podem ser realizados de forma manual ou industrial (MAC FADDEN 2005; ROGEZ 2000).

Após a colheita dos frutos maduros ocorre a lavagem dos mesmos, sendo estes embebidos em água morna (40 °C) durante 30 minutos para o amolecimento do epicarpo (casca) e mesocarpo (polpa) com posterior despolpamento, que se dá, com frequência, por meio de

despolpadeira industrial (ROGEZ, 2000; CALLEGARI, 2003; MAC FADDEN, 2005; SCHULTZ, 2008). Nenhuma despolpadeira disponível no mercado processa os frutos com eficiência sem a adição total de água, desta forma, a polpa integral não é um produto encontrado no mercado (OLIVEIRA; CARVALHO; NASCIMENTO, 2000).

A emulsão obtida a partir do processamento dos frutos das palmeiras do gênero *Euterpe* é classificada de acordo com a adição de água realizada e a quantidade de sólidos totais. O açaí grosso ou especial é caracterizado pela quantidade de sólidos totais acima de 14%; açaí médio ou regular é formado com quantidade de sólidos totais entre 11 e 14% e o açaí fino ou popular apresenta sólidos totais entre 8 e 11% (BRASIL, 2000). Até o dado momento, não há esta classificação de acordo com a quantidade de sólidos totais para os frutos processados provenientes da juçara, segundo o Ministério da Agricultura do Brasil.

O açaí é altamente perecível devido sua elevada carga microbiana, podendo haver degradação enzimática, responsável por alterações de cor e sabor (QUEIROZ; CUNHA; ROGEZ, 1998; SOUSA; MELO; ALMEIDA, 1999; PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012). Além do tempo de conservação, a capacidade nutricional do açaí também pode variar dependendo das condições de solo, plantio, além do transporte e pela presença de outros componentes químicos que são adicionados, alterando a capacidade de ação dos nutrientes da polpa do açaí (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

Os frutos de juçara são processados de forma similar ao que ocorre no processamento do açaí (MAC FADDEN 2005). A produção de emulsão artesanal de juçara tem apresentado rendimento em volume e concentração semelhantes ao açaí (COSTA et al., 2008). Ressalta-se que devido às quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, estes produtos estão sujeitos à autoxidação (ROGEZ, 2000; MENEZES; TORRES; SRUR, et al., 2008; NASCIMENTO, et al., 2008).

Atualmente, no estado de Santa Catarina, a produção de frutos da palmeira *Euterpe edulis* e seu processamento, ocorre em pequenas agroindústrias e são alternativas de diversificação da produção e da renda para a agricultura familiar (SCHIRMANN, 2009).

2.1.2.1 Efeito da pasteurização sobre as antocianinas

As antocianinas, antioxidantes que aparecem em maior quantidade nos frutos da juçara e açaí, são sensíveis ao calor quando retiradas do meio celular, no processamento da bebida. A pasteurização

pode ocasionar perdas de 5 a 30% de antocianinas, de acordo com as condições de temperaturas e pH utilizadas. Consta-se que há diminuição das perdas de antocianinas na redução do pH, em função das antocianinas serem mais estáveis em pH baixos (OLIVEIRA; FARIAS NETO; SILVA, 2007).

Em condições intermediárias de tratamento térmico (82,5 °C/1 min à pH 3,75), as perdas em pigmentos são inferiores à 15%, a inativação das enzimas é garantida, assim como a destruição dos bolores e leveduras. Desta forma pode-se concluir que a acidificação da bebida, com a adição de ácido cítrico favorece a estabilidade das antocianinas (OLIVEIRA; FARIAS NETO; SILVA, 2007).

2.1.3 Composição dos frutos de juçara e do açaí

Alguns autores consideram que pela similaridade no sabor entre açaí e frutos de juçara e por se tratarem de espécies do mesmo gênero, pode-se tomar como referencial para a polpa do fruto da palmeira juçara, a já estudada composição nutricional da polpa dos frutos do açazeiro da Amazônia (COSTA et al., 2006). No entanto ressalta-se que cada espécie possui suas especificidades.

O Ministério da Agricultura estabelece de acordo com o regulamento técnico de padrão de identidade e qualidade que a polpa de açaí e o açaí devem ter suas composições de acordo com as características dos frutos que lhe deram origem. A polpa de açaí deve ter quantidade de sólidos totais entre 40 g/100g e 60 g/100g e deve conter em g/100g de matéria seca, a quantidade mínima de 5 g de proteínas, 20 g lipídios totais e 51 g de carboidratos totais. Já o açaí, considerando sua classificação em fino, médio e grosso, deverá conter em g/100g de matéria seca, a quantidade entre 20 e 60 g para lipídios totais, o mínimo de 6 g para proteínas e máximo de 40 g para carboidratos (BRASIL, 2000).

Os lipídios são os macronutrientes encontrados em maior quantidade na polpa do açaí (ROGEZ, 2000; ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER, 2004). Seu teor encontra-se em torno de 50%, sendo considerado uma emulsão de óleo em água (ROGEZ, 2000).

Segundo Schauss e colaboradores (2006), que caracterizaram a composição de açaí liofilizado, observaram que o teor de ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos saturados contribuiu em 11,1%, 60,2% e 28,7% para o total de ácidos graxos, respectivamente, sendo o ácido oléico (53,9%) e ácido palmítico (26,7%) os predominantes.

O conteúdo de lipídios nos frutos de juçara, dependendo de seu local de colheita, apresentou variação de 18,45 a 44,05% de matéria seca, sendo a predominância de ácidos graxos monoinsaturados variando de 45,53 à 56,82% do total da fração lipídica deste frutos, de acordo com a localização de proveniência do fruto analisado, sendo o ácido oléico (44,63-55,61% em relação a fração lipídica total) o maior constituinte destes ácidos graxos. Os ácidos graxos saturados (24,32 - 28,89% em relação a porção total de lipídios) apresentaram quantidade de ácido palmítico (20,25 - 25,00% em relação a fração lipídica total) com maior relevância. Os ácidos graxos poliinsaturados foram representados pelo ácido linoléico, majoritariamente (18,19 - 25,36%) e α -linolênico, desta forma a juçara é um fruto rico em ácidos graxos insaturados, em torno de 70% (BORGES, 2010).

A quantidade de proteína encontrada é em torno de 10% (ROGEZ, 2000). Em polpa liofilizada de açaí, dezenove aminoácidos foram identificados, sendo responsáveis por 7,59% do peso total, dentre os quais, destacam-se o ácido aspártico (0,83%), ácido glutâmico (0,80%), lisina (0,66%), leucina (0,65%), prolina (0,53%), valina (0,51%), alanina (0,46%), fenilalanina (0,43%) (SCHAUSS et al., 2006). Alexandre e colaboradores (2004), encontraram valor próximo aos anteriormente citados, em torno de 10,69 g/100g de matéria seca para proteínas. Para os frutos de juçara o conteúdo de proteína total variou de 5,13 a 8,21% em matéria seca (BORGES, 2010).

Já o teor de carboidratos fica em aproximadamente 3,55% para a polpa de açaí (ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER, 2004). Segundo Schauss e colaboradores (2006), a quantidade de carboidratos estimada foi de 8 g/100 g de peso seco, com a exclusão da quantidade de fibras (44,2 g/100 g) a partir da quantidade de carboidratos totais (52,2 g/100 g) avaliada. De acordo com Rogez (2000), o teor de sacarídeos como glicose, frutose e sacarose é relativamente baixo, apresentando valor médio de 2,96% da matéria seca.

O teor médio de fibras alimentares totais é de 25,22% da matéria seca, sendo este o segundo composto em maior quantidade na polpa de açaí após os lipídeos (ROGEZ, 2000). Valor próximo foi encontrado no estudo de Alexandre e colaboradores (2004).

Os minerais encontrados em maior quantidade, tanto na emulsão açaí quanto na polpa liofilizada proveniente dos frutos do açaizeiro, foram potássio e cálcio, com quantidades próximas a 900 mg e 300 mg por 100 g de matéria seca (ROGEZ, 2000; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008).

O estudo realizado por Silva, Barretto e Serôdio (2004) que objetivou comparar a emulsão advinda dos frutos de açaí com a emulsão proveniente dos frutos juçara produzida no sul da Bahia detectou diferenças significativas entre a composição dos frutos destas duas espécies. Os resultados demonstraram que os frutos de juçara possuem elementos minerais em quantidades próximas ou mais elevadas que às dos frutos do açaizeiro, a exemplo do potássio, ferro e zinco. O teor de potássio na juçara foi 65,7% superior ao encontrado no açaí. O ferro e o zinco, foram 70,3% e 20,8 %, maior, respectivamente, que nos frutos do açaizeiro. Os teores de fósforo e cobre foram significativamente maiores no açaí, e o cálcio, magnésio e manganês não apresentaram diferenças significativas (SILVA; BARRETTO; SERÔDIO, 2004).

A Tabela 1 demonstra a análise de composição química de macronutrientes do fruto de juçara e açaí realizada por alguns autores.

Tabela 1- Composição de macronutrientes dos frutos de juçara e açaí:

Autor	Ano publicação	Espécies	Proteínas g/100g*	Lípidios g/100g*	Carboidratos g/100g*
ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER	2004	Açaí médio congelado	10,69	48,24	3,55
SHAUSS et al.	2006	Açaí liofilizado	8,1	32,5	8
SILVA; BARRETTO; SERÔDIO	2004	Açaí	7,76	13,09	1,02
SILVA; BARRETTO; SERÔDIO	2004	Juçara	6,72	13,78	1,2
BORGES	2010	Frutos de juçara	5,13 a 8,21	18,45 a 44,05	

* ms = matéria seca

De acordo, com os dados referidos acima, os frutos juçara apresentam composição química com qualidade nutricional comparável aos frutos do açaizeiro.

Os frutos de juçara, além de propriedades nutricionais interessantes, especialmente quanto à sua proporção de ácidos graxos, vêm chamando atenção de pesquisadores também por sua composição

fitoquímica e possíveis efeitos benéficos à saúde, vista a caracterização e quantificação de seus compostos fenólicos, dentre os quais se destacam os flavonóides e mais especificamente as antocianinas, que pertencem à classe dos antioxidantes, sendo importantes na neutralização das espécies reativas.

2.2 RADICAIS LIVRES, ANTIOXIDANTES E ESTRESSE OXIDATIVO

2.2.1 Radicais livres

Radical livre (RL) é qualquer espécie com existência independente (por isso o termo livre) que contém um ou mais elétrons desemparelhados, que ocupam um orbital atômico ou molecular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; HALLIWELL, 2006).

Os elétrons desemparelhados conferem reatividade a esses átomos e moléculas, tornando-os capazes de reagir com compostos situados próximos à suas órbitas externas desencadeando, assim, reações de óxido-redução (HALLIWELL, 1996a; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Espécies reativas de oxigênio (ERO) é um termo para designar radicais derivados do oxigênio e algumas outras espécies não radicalares derivadas do oxigênio que podem facilmente gerar radicais livres. Além destas, há também espécies reativas de nitrogênio (ERN), cloro, ferro, cobre e enxofre e tais espécies possuem os seus próprios tipos particulares de reatividade química (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). ERO e ERN são geradas *in vivo*, tanto em condições fisiológicas quanto em condições patológicas (FANG; YANG; WU, 2002; HALLIWELL, 1996b). Assim, o termo espécie reativa parece mais apropriado, uma vez que alguns agentes reativos não apresentam elétrons livres em sua última camada eletrônica (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Segundo Halliwell (2012), cada espécie reativa tem suas propriedades químicas especiais e taxas de reação.

As espécies reativas podem ser geradas a partir de três maneiras: clivagem hemolítica de uma ligação covalente de uma molécula normal, com cada um dos fragmentos retendo um dos elétrons emparelhados; perda de um elétron por uma molécula; adição de um elétron a uma molécula normal (DEVASAGAYAM et al., 2004; HALLIWELL, 2006; JAIN ET al., 2013).

Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, o oxigênio molecular (O₂) sofre redução monovalente, resultando na

formação de água (H_2O). Durante este processo são formados os intermediários reativos: superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoxil (HOO^{\cdot}), hidroxil (OH^{\cdot}) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FRIDOVICH, 1999).

O radical OH^{\cdot} é o mais deletério ao organismo e sua meia-vida curta o que dificulta seu “sequestro” *in vivo* (HALLIWELL; CROSS; GUTTERIDGE, 1992). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) isoladamente é praticamente inócuo, porém pode se difundir facilmente através das membranas celulares (HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987). O H_2O_2 é gerado *in vivo* pela dismutação do ânion-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) por enzimas oxidases ou pela β -oxidação de ácidos graxos. (HALLIWELL; CLEMENT; LONG, 2000). Cabe ressaltar ainda, que a forma mais reativa de oxigênio molecular são os átomos de oxigênio singlete, que podem ser gerados por uma entrada de energia que rearranja os elétrons (FOOTE et al., 1985).

O óxido nítrico (NO^{\cdot}) e seus derivados formam as ERN de maior relevância biológica para o organismo (BECKMAN, 1996). Entretanto, ERN envolvem-se em ações fisiológicas de grande importância como relaxamento da musculatura lisa e regulação da pressão arterial, como é o caso do óxido nítrico (FRIDOVICH, 1999).

O organismo humano possui um sistema equilibrado de ER e antioxidantes que permite que algumas ER realizem funções úteis como produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização celular e síntese de substâncias biológicas importantes, além de possuírem relação relevante com o sistema imune, já que estas espécies podem ajudar a eliminar microrganismos infecciosos (LANDER, 1997; FRIDOVICH, 1999; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; IMLAY, 2008; HALLIWELL, 2011).

No entanto, quando em excesso, as espécies reativas podem desempenhar papel oxidante em macromoléculas biológicas, sendo que quando estes danos alcançam células e tecidos é chamado de dano oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Como oxidantes, as ERO e ERN causam efeitos prejudiciais, como a oxidação do DNA, proteínas, aminoácidos, lipídeos e outras biomoléculas, resultando em uma variedade de conseqüências biológicas, incluindo lesão tecidual, mutação, carcinogênese, comprometimento do sistema imunológico e morte celular (STOHS, 1996; MCCORD, 2000).

A lipoperoxidação (LPO) constitui a oxidação lipídica de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) nas membranas celulares ou lipoproteínas do sangue. Esta reação ocorre com as etapas de iniciação, propagação e terminação.

A etapa de iniciação é caracterizada pelo sequestro de um átomo de hidrogênio do AGP da membrana celular com consequente formação de um radical lipídico (L[•]). Na primeira equação da propagação, o L[•] reage rapidamente com o O₂, produzindo um radical peróxil (LOO[•]), que, por sua vez, sequestra novo hidrogênio do AGP, produzindo um hidroperóxido lipídico (LOOH), enquanto gera um novo L[•] na segunda equação da propagação. O término da lipoperoxidação ocorre quando os radicais lipídicos se estabilizam (DE GROOT, 1994; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

A LPO acarreta em alterações na estrutura e permeabilidade das membranas celulares, com consequente perda de seletividade nas trocas iônicas e liberação do conteúdo de organelas, além da formação de produtos citotóxicos, como o malondialdeído (MDA), resultando na morte celular (HERSHKO, 1989).

As ER possuem meia vida muito curta, o que dificulta sua medição em laboratório. Apesar disso, várias metodologias são disponíveis hoje, cada um com as suas próprias vantagens e desvantagens (POLJSAK; SUPUT; MILISAV, 2013). Cabe destacar que é difícil estabelecer como a capacidade antioxidante individual se comporta, pois pode ser impedindo a formação de ER, por eliminação das ER ou reparação de danos oxidativos. Além disso, o estado antioxidante difere significativamente entre os indivíduos e entre os métodos laboratoriais utilizados *in vivo*. Não há valores de referência sobre as concentrações ideais de antioxidantes na urina, sangue ou intracelular (POLJSAK; JAMIK; 2010; POLJSAK; SUPUT; MILISAV, 2013).

Em relação à detecção de produtos derivados da oxidação de macromoléculas, destaca-se a utilização de indicadores da oxidação lipídica, tais como hidroperóxidos lipídicos, isoprostanos, dienos conjugados e MDA (JACKSON, 1999).

Os ataques aos aminoácidos que compõem as proteínas podem gerar danos como clivagens de ligações, o que pode ter como consequência perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, degradação citosólica de proteases e morte celular (BERGER et al., 1999; JAIN et al., 2013).

A oxidação direta de lisina, arginina, prolina e treonina fornece derivados carbonílicos, sendo estes amplamente utilizados como marcador de dano oxidativo em proteínas (VASCONCELOS et al., 2007).

Danos acumulativos são causados ao DNA e RNA. Se a cadeia do DNA é quebrada, pode ser reconectada em outra posição alterando,

assim, a ordem de suas bases. Esse é um dos processos básicos da mutação e o acúmulo de bases danificadas pode desencadear a oncogênese (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; JAIN et al., 2013).

Além disso, ER podem interagir com elementos do citoesqueleto e interferir na fosforilação mitocondrial aeróbia, causando depleção de ATP (JAIN et al., 2013).

Já que as ER não são completamente removidas *in vivo*, a habilidade para reparar ou remover moléculas danificadas oxidativamente é essencial (GEMS; DOONAN, 2009; PEREZ, et al. 2009; JANG; REMMEN, 2009).

As proteções conhecidas do organismo contra as ERO e ERN abrangem a proteção enzimática ou por micromoléculas, que podem ter origem no próprio organismo ou ser adquirida através da dieta, esta defesa exercida é denominada antioxidante.

2.2.2 Antioxidantes

A defesa antioxidante humana é complexa e funciona para minimizar as concentrações de espécies reativas enquanto permite que estas, continuem desempenhando seus papéis fisiológicos (HALLIWELL, 2011). Segundo Halliwell (2000) antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo.

Na proteção ao organismo, o sistema de defesa antioxidante pode atuar como detoxificador das ER, impedindo a sua formação, ou através do reparo de suas lesões. Este processo relaciona-se com a remoção de danos da molécula de DNA e reconstituição das membranas celulares (SIES, 1993).

O sistema antioxidante pode ser absorvido através da dieta, antioxidantes exógenos, ou ser produzido pelo próprio organismo, denominados antioxidantes endógenos, sendo que estes podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (SIES, 1993; HALLIWELL, 1996a).

Dentre os sistemas antioxidantes enzimáticos, destacam-se as chamadas defesas antioxidantes primárias, que incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx), catalase (CAT), glutatona- S-transferase (GST) e outras que não participam diretamente do processo, mas fornecem suporte à GPx, como a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e a glutatona redutase (GR) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; DROGE, 2002).

A enzima superóxido dismutase (SOD), catalisa a conversão do radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) em oxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A catalase atua na dismutação do H_2O_2 em oxigênio e água, tendo um dos mais elevados números de turnover de todas as enzimas, visto que uma molécula de catalase pode converter milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio a água e oxigênio a cada segundo (BABIOR, 1997; CHELIKANI; FITA; LOEWEN, 2004; JAIN et al., 2013).

A glutatona opera em ciclos entre sua forma oxidada e sua forma reduzida. A GSH reduz o H_2O_2 a H_2O em presença de glutatona peroxidase (GPx), formando uma ponte dissulfeto e, em seguida, a glutatona reduzida (GSH) é regenerada (BABIOR, 1997). Oito isoformas diferentes de glutatona peroxidase (GPx1-8) foram identificadas até o momento no organismo humano. A glutatona peroxidase 1 (GPx1) é a mais abundante, encontrada no citoplasma de quase todos tecidos dos mamíferos tecidos, cujo substrato preferido é o peróxido de hidrogênio. A glutatona peroxidase 4 (GPx4) tem uma preferência por hidroperóxidos lipídicos, expressa em quase todas as células de mamíferos em concentrações muito baixas. A glutatona peroxidase 2 é uma enzima intestinal extracelular, enquanto que a glutatona peroxidase 3 é extracelular, abundante no plasma (JAIN et al. 2013).

Sendo assim, de forma geral, os antioxidantes endógenos enzimáticos convertem as espécies reativas em outros radicais menos tóxicos (HALLIWELL, 1996a).

Dentre os antioxidantes endógenos não enzimáticos destacam-se a glutatona reduzida (GSH), bilirrubina, ubiquinona, ácido úrico e proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina) (HALLIWELL, 1996a).

O ácido úrico se liga a metais de transição pró-oxidantes, impedindo sua reação com H_2O_2 para produzir radical hidroxil. Atua também na estabilização do ascorbato e reage com grande variedade de espécies reativas e inibe indiretamente a oxidação lipídica pela ligação ao Fe e Cu (JAIN et al., 2013).

Segundo Lotito e Frei (2004b), o aumento do ácido úrico e consequentemente da atividade antioxidante total *in vivo*, após a ingestão de frutas ricas em antioxidantes, pode ocorrer devido ao efeito do metabolismo da frutose sobre o ácido úrico. A frutose, o açúcar predominante das frutas, tem sido associada ao aumento dos níveis séricos de urato devido à rápida degradação da adenosina trifosfato (ATP) hepática usada na reação catalisada pela frutoquinase, enzima que degrada a frutose. A redução temporária da ATP hepática e do fosfato

inorgânico ocasiona a redução da inibição das enzimas 5'-nucleotidase e adenosina monofosfato (AMP) desaminase, respectivamente. Estas duas enzimas por sua vez quando ativas são responsáveis pela degradação da AMP à ácido úrico (HALLFRISCH, 1990).

Em meio aos antioxidantes exógenos o organismo utiliza aqueles provenientes da dieta, tais como ácido ascórbico, vitamina E, vitamina A, zinco, selênio, flavonóides e outros compostos fenólicos, além de compostos bioativos encontrados em plantas (BIANCHI; ANTUNES, 1999; FANG; YANG; WU, 2002; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Segundo Jain e colaboradores (2013), os antioxidantes dietéticos são substâncias presentes nos alimentos que diminuem o efeito adverso das ER em condições fisiológicas normais.

Para a determinação da capacidade antioxidante, muitos estudos têm examinado a concentração de antioxidantes no sangue, tais como ácido ascórbico, ácido úrico e compostos fenólicos, e/ou determinado a atividade celular de enzimas antioxidantes (FANG; YANG; WU, 2002).

Alguns autores consideram improvável a ação antioxidante direta dos compostos dietéticos devido à sua baixa biodisponibilidade. Porém, cabe ressaltar que evidências epidemiológicas ainda servem de base para demonstrar que antioxidantes contidos em frutas e vegetais podem ajudar a prevenir, ou afetar o desenvolvimento de doenças (WOOTTON-BEARD; RYA, 2011). No caso dos compostos fenólicos, a biodisponibilidade destes, pode ser subestimada devido a uma falha ou incapacidade de medir os metabólitos secundários durante o processo de digestão (MANACH et al., 2004).

Halliwell (2012), por meio de nova abordagem, confere que no lugar de grandes doses de antioxidantes dietéticos, poderia ser utilizado o aumento dos antioxidantes endógenos (por exemplo, com o fornecimento de “pró-oxidantes” e assim estimulação da defesa endógena) diminuindo assim o risco do desenvolvimento de doenças. O autor defende que se a pessoa não é deficiente em vitaminas, as defesas endógenas são mais importantes que a ingestão exacerbada de antioxidantes como vitamina E, C ou flavonoides.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos e antocianinas, sobre o organismo humano, serão abordadas com maior profundidade no item 3.3.

A ação dos antioxidantes na neutralização das espécies reativas, quando em excesso, pode contribuir para atenuar o estado de estresse oxidativo que pode ser desenvolvido nestas condições.

2.2.3 Estresse oxidativo

O termo estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre as concentrações das ER e os mecanismos de defesa antioxidante do organismo, que resulta em dano oxidativo a biomoléculas como DNA, lipídeos e proteínas (SIES, 1986; DOTAN; LICHTENBERG; PINCHUK, 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Esta situação pode ocorrer pelo aumento dos agentes pró-oxidantes (ERO e ERN) sem simultâneo aumento das defesas antioxidantes, porém em outras ocasiões, os antioxidantes podem apresentar-se em concentrações diminuídas sem elevação das ERO e ERN; ou ainda, os fatores anteriormente citados podem ocorrer de forma concomitante, denotando situação mais severa (SIES, 1986; DOTAN; LICHTENBERG; PINCHUK, 2004).

O estresse oxidativo está associado a diversos processos patológicos tais como a carcinogênese, mutagênese, aterogênese, envelhecimento, entre outros (FANG; YANG; WU, 2002). O papel de espécies reactivas na origem e/ou progressão da maioria das doenças humanas ainda não é claro, apesar de serem importantes no processo de carcinogênese e doenças neurodegenerativas (HALLIWELL, 2012).

Há diversos e complexos métodos para avaliar o estado de estresse oxidativo. Devido à falta de um método padrão ouro para a detecção dos danos oxidativos, três linhas de metodologias têm sido empregadas: determinação da concentração de antioxidantes, determinação de indicadores indiretos da atividade das espécies reativas, como por exemplo, a detecção de produtos derivados da oxidação de macromoléculas e avaliação direta das espécies reativas (JACKSON, 1999).

A fim de amenizar o quadro de estresse oxidativo, antioxidantes provenientes de determinados alimentos vêm sendo estudados, dentre eles destacam-se os compostos fenólicos e mais especificamente as antocianinas, presentes em quantidades relevantes nos frutos juçara, foco deste estudo.

2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os compostos fenólicos são os metabólitos secundários de plantas e são necessários para o seu crescimento normal e desenvolvimento. Estes compostos apresentam em sua estrutura três anéis aromáticos com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo humano

contra o estresse oxidativo (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; ASAMI et al., 2003; DIETRICH; RECHNER; PATZ, 2004; BENVENUTI et al., 2004).

Berries e frutas como maçã, pêra contém cerca de 200-300 mg polifenóis por 100 gramas de peso fresco. O produtos fabricados a partir desses frutos, também podem conter quantidades relevantes de polifenóis (MUSHTAQ; WANI, 2013).

O teor de compostos fenólicos em frutos do tipo *berries* é determinado por fatores, como espécie, região de cultivo, condições climáticas, maturação, tempo de colheita e condições de armazenamento (BENVENUTI et al., 2004; HAKKINEN; TORRONEN, 2000; CONNOR et al., 2002; HAKALA et al., 2003; SKUPIEŃ; OSZMIANSKI, 2004).

Os compostos fenólicos são representados por ácidos fenólicos, taninos, e flavonóides como antocianinas, flavonóis e flavanóis (catequinas), diferindo-se quanto à sua estrutura e peso molecular (SHAHIDI; NACZK 2004; PUUPPONEN-PIMIA et al., 2005; CIESLIK; GREDA; ADAMUS; 2006).

As antocianinas são responsáveis pelas cores vermelha, violeta, roxa e azul, de determinados frutos (KONG et al., 2003; PRIOR, 2003). Este grupo de antioxidante compreende um grande grupo de pigmentos solúveis em água. Nas frutas, elas são encontradas principalmente nas camadas externas da hipoderme. Em células, elas estão presentes em vacúolos sob a forma de grânulos de tamanhos diferentes (SHAHIDI; NACZK 2004).

As antocianinas diferem no que diz respeito ao número de grupos hidroxilas, o grau de metilação destes grupos, o número, tipo e local de ligação de moléculas de açúcar e o tipo e número de ácidos aromáticos ligados a açúcares, na molécula (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; KONG et al., 2003). A estrutura química dos polifenóis é de grande importância visto que não é a concentração destes que determina a extensão de sua absorção e a natureza dos metabólitos na circulação sanguínea (MUSHTAQ; WANI, 2013).

A vasta proteção antioxidante das antocianinas e seus benefícios terapêuticos, incluem proteção ao DNA, efeito cardioprotetor, neuroprotetor, além de propriedades inflamatórias e anticarcinogênica (HEBER, 2004; JURANIC; ZIZAK, 2005; DUTHIE; GARDNER; KYLE, 2003; CIRICO; OMAJE, 2006; PRIOR, 2003; ZAFRA-STONE, 2007). Estudos demonstraram inibição da oxidação de LDL humano (do inglês *low density lipoprotein*) e lipossomas, além da

neutralização de radicais livres (SATUÉ-GRACIA; HEINONEN; FRANKEL, 1997; KAHKONEN; HEINONEN, 2003).

Alguns trabalhos procuraram quantificar e comparar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante entre o açaí e frutos de juçara. Segundo Iaderoza e colaboradores (1992), o conteúdo em antocianinas dos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) é de 336 mg/100 g e dos frutos da juçara é de 1.347 mg/100 g. Este estudo indica que os frutos de juçara apresentam uma concentração em antocianinas quatro vezes superior aos frutos do açaizeiro do norte do país.

De acordo com Borges (2010), os frutos de juçara provenientes de diferentes regiões de Santa Catarina, tiveram o conteúdo de fenólicos totais entre 14,28 e 48,99 mg equivalente ao ácido gálico/g (EAG) de polpa seca desengordurada (PSD). Comparando estes valores com os dados previamente publicados do açaí proveniente da Amazônia os valores variaram entre 2,2 e 5,02 mg EAG/g PSD (SANABRIA; SANGRONIS, 2007). No estudo de Borges (2010) a quantidade de antocianinas encontrada variou entre 3,59 e 10,80 mg/g PSD, sendo estas quantidades duas a três vezes maior às demonstradas em estudos prévios com frutos de açaizeiro (IADEROZA et al., 1992, DEL POZO INFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004, SCHAUSS et al., 2006, SANABRIA; SANGRONIS, 2007).

Em relação ao potencial antioxidante dos frutos de juçara e açaí, segundo Schultz (2008), nos frutos de juçara os valores para compostos fenólicos, antocianinas e TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) foram respectivamente 398,6 mg.100g⁻¹, 58,5 mg.100g⁻¹ e 13,6 μmol.g⁻¹, enquanto que para o açaí os valores apresentados foram de 267,3 mg.100g⁻¹, 18,4 mg.100g⁻¹ e 9,2 μmol.g⁻¹ para os mesmos parâmetros avaliados nos frutos de juçara. Desta forma, em termos de mg.g⁻¹ de MS, de acordo com Schultz (2008), os frutos da *Euterpe edulis* apresentaram 81% mais compostos fenólicos e 353% mais antocianinas do que o açaí proveniente da *Euterpe Oleracea*.

Intervenções nutricionais através de consumo agudo ou único, com frutos com elevada quantidade de antocianinas vêm demonstrando aumento da capacidade antioxidante em indivíduos saudáveis (YUAN et al., 2013; JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008; HASSIMOTTO; PINTO; LAJOLO, 2008; GARCÍA-ALONSO et al., 2006; MAZZA et al., 2002). Estudo que avaliou o efeito do consumo agudo de suco rico em antioxidantes, elaborado com uva, cereja, amora e framboesa, com quantidade equivalente 10 porções de frutas, em 12 indivíduos saudáveis, observou em 2 a 6 horas após o consumo, sutil aumento de lípidios ligados à polifenóis séricos, associado com uma

diminuição significativa de produtos de peroxidação de lípida sérica. Estes dados indicam que os compostos fenólicos biodisponíveis do suco foram capazes de se ligar com a fração lipídica sérica, reduzindo assim a peroxidação lipídica (GARCÍA-ALONSO et al., 2006). Em estudo *in vivo* realizado com 6 mulheres saudáveis utilizando suco de amoras contendo 112 mg de antocianinas/100 g de peso fresco, observou-se correlação direta entre a capacidade antioxidante e ácido ascórbico e correlação inversa entre capacidade antioxidante e ácido úrico. Constatou-se ainda aumento da catalase após a ingestão do suco, sugerindo associação entre as concentrações de antocianinas e catalase, além de boa correlação entre capacidade antioxidante e ácido ascórbico no plasma humano (HASSIMOTO; PINTO; LAJOLO, 2008).

De acordo com Mazza e colaboradores (2002), o consumo agudo de 100 g de mirtilo liofilizado com 120 mg de antocianinas, por 5 homens saudáveis, após refeição rica em gordura, demonstrou após 4 horas de consumo, concentrações máximas de antocianinas séricas. Em média o consumo de antocianinas foi de 15 mg/kg de peso corporal dos participantes, sendo que a média de peso destes era de 80 kg. O aumento das antocianinas totais séricas foi diretamente correlacionado com aumento da capacidade antioxidante, avaliada pelos métodos ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) e TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity).

São poucos os estudos que avaliaram o efeito do consumo de açaí sobre o potencial antioxidante sanguíneo de indivíduos saudáveis, sendo que até o presente momento, não foram encontradas pesquisas referentes ao consumo humano de frutos de juçara. Jensen e colaboradores (2008) avaliaram o efeito do consumo em dose única de 120 ml de suco rico em antioxidantes, onde o principal constituinte era o açaí (*Euterpe oleracea*) sobre a capacidade antioxidante de 12 indivíduos saudáveis, encontrando, 2h após a ingestão, aumento significativo da capacidade antioxidante e diminuição significativa do TBARS (do inglês, thiobarbituric reactive substances), um marcador de dano oxidativo à lipídeos. O consumo de 7 mL/kg de peso de polpa de açaí (*Euterpe oleracea*), por 11 indivíduos saudáveis, demonstrou aumento significativo da capacidade antioxidante plasmática além de absorção das antocianinas plasmáticas, demonstrando a biodisponibilidade deste grupo em seres humanos saudáveis (MERTENS-TALCOTT et al., 2008).

De acordo com pesquisas clínicas, a biodisponibilidade de antioxidantes naturais excede o dos suplementos farmacêuticos

correspondentes, considerando seus efeitos benéficos à saúde (SZAJDEK; BOROWSKA, 2008).

Apesar de não totalmente elucidado, tem sido concebido que o efeito benéfico dos alimentos ricos em flavonóides está relacionado à ação antioxidante na proteção contra o dano oxidativo à macromoléculas biológicas, como lipídeos, proteínas e DNA (GERHAUSER, 2008). Assim, defende-se que os flavonóides provenientes da dieta exercem seus efeitos benéficos através do mecanismo de defesa antioxidante do organismo, associando-se à menor incidência de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas (DAUCHET; AMOUYEL; DALLONGEVILLE, 2005; LOTITO; FREI, 2006; MIRMIRAN et al., 2009; ZHANG et al., 2009).

Desta forma elaborou-se a seguinte pergunta de partida: Qual é o efeito do consumo agudo do fruto juçara (*Euterpe edulis*) na atividade antioxidante e biomarcador de dano oxidativo em indivíduos saudáveis?

O Quadro 1 refere o estado da arte, acerca de principais estudos que utilizaram como variáveis o efeito da ingestão única de sucos ou polpa de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante de indivíduos saudáveis. Ressalta-se que somente dois estudos utilizaram como intervenção alimentar açai (polpa ou suco) ou ainda suco rico em *berries*, sendo o açai o *berrie* presente majoritariamente. Os parâmetros avaliados que se encontram em negrito, referem-se aos parâmetros que vão ao encontro dos parâmetros bioquímicos propostos neste trabalho.

Quadro 1: Estado da arte referente a estudos que utilizaram como variáveis o efeito do consumo de frutos ricos em antocianinas sobre a atividade antioxidante de indivíduos saudáveis.

Autores/Local	Temas	Parâmetros avaliados	Conclusão
JENSEN e colaboradores 2008 - Canadá	Investigar in vitro e in vivo propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (suco de açaí)	TBARS, CAP-e e formação de ERO por células PMN	Aumento da capacidade antioxidante e diminuição da peroxidação lipídica
MERTENS-TALCOTT e colaboradores 2008 - Estados Unidos	Investigar o teor de antocianinas e capacidade antioxidante de suco e polpa de açaí	Antocianinas plasmáticas, ORAC, ácido úrico e geração de ERO	Aumento da capacidade antioxidante
HASSIMOTTO e colaboradores 2008 - Brasil	Avaliar o estado antioxidante humano após o consumo de suco de amora com ou sem leite desengordurado	Antocianinas plasmáticas, CAT, GPx, urato, Alfa-tocoferol, ácido ascórbico, DPPH e ORAC	Associação entre antocianinas e CAT e correlação entre capacidade antioxidante e ácido ascórbico.
MERTENS-TALCOTT e colaboradores 2006 - Estados Unidos	Absorção, metabolismo e efeito antioxidante dos polifenóis do coma após ingestão de extrato padronizado	ORAC, IL-6	Aumento da capacidade antioxidante enquanto a geração de espécies reativas de oxigênio não foi afetada.
GARCIA-ALONSO e colaboradores 2006 - Espanha	Investigar se suco rico em antioxidantes (uva e outros berries) melhora o estado antioxidante	FRAP, TBARS, proteína carbonilada, ácido úrico, polifenóis séricos e urinários, ácido ascórbico	Diminuição significativa da peroxidação lipídica e aumento da oxidação proteica.
MAZZA e colaboradores 2002 - Canadá	Avaliar a absorção de antocianinas e o estado antioxidante após o consumo de amora	Antocianinas plasmáticas, ORAC e TEAC	O aumento das antocianinas totais séricas foi diretamente correlacionado com um aumento da capacidade antioxidante

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances; CAP-e: cell-based antioxidant protection in erythrocytes; SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; GPx: glutathione peroxidase; IL-6: interleucina 6; FRAP: ferric reducing antioxidant potential; TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity; ORAC: Oxygen radical absorbance capacity.

CAPÍTULO 3 - MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi realizada a caracterização química do suco de juçara fornecido aos participantes do estudo. Posteriormente a realização desta etapa, foi avaliado o efeito do consumo agudo, ou único, administrado em um dia para cada etapa, sendo os tratamentos, fruto juçara e controle, sendo este a água. A atividade antioxidante foi avaliada através do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), ácido úrico, glutatona reduzida (GSH), glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e hidroperóxidos lipídicos (HL).

3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

3.1.1 Obtenção do fruto juçara

Os frutos juçara foram produzidos por empresa especializada, seguindo padronizações de processamento e pasteurização, da safra de novembro de 2012. Os frutos juçara foram diluídos em água, obtendo-se o teor de sólidos totais de 7,5 g/100g, tendo aparência pouco densa, com aspecto de suco.

Todos os reagentes e solventes utilizados foram obtidos de fornecedores comerciais e as análises para caracterização química dos frutos foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, em parceria com a Prof^a Dra Roseane Fett.

3.1.2 Composição química

As metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemicals* (AOAC, 2005) foram realizadas para a determinação do conteúdo de matéria seca, acidez titulável (AT), proteínas, cinzas e pH.

O conteúdo de matéria seca foi determinado por secagem em estufa a $105 \pm 5^\circ\text{C}$ até peso constante AOAC (940.26), já a acidez titulável (AT) foi quantificada por titulação com solução de NaOH 0,1 M e expressa como mg ácido cítrico/100g, o conteúdo de proteínas (F = 6,25), lipídios e cinzas foram determinados pelos métodos da AOAC (920.152), (933.05) (940.26), respectivamente. O pH foi determinado a

20 ± 5°C, com um medidor digital de pH (Digimed DM-20, Brasil), calibrado com tampões pH 4 e pH 7.

Para complementar a caracterização química do fruto de juçara foram avaliados fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e atividade antioxidante pelo método DPPH.

Para a determinação de fenólicos totais e avaliação antioxidante pelo método DPPH (radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), foi preparado extratos a partir da pesagem de 5 g da polpa desengordurada em tubo de polietileno com capacidade de 50 mL, adicionados de 10 mL de metanol: água (50: 50) (v/v) homogeneizado, submetidos ao processo de extração em ultrassom por 30 minutos (USC-1400 Unique, São Paulo, Brasil), após, o extrato foi centrifugados a 2000 x g por 15 minutos (Fanen 280R, São Paulo, Brasil). Em seguida coletou-se o sobrenadante em um balão volumétrico de 25 mL, e o resíduo centrifugado foi submetido a um novo processo de extração com adição de 10 mL de acetona: água (70:30) (v/v) em ultrassom por 30 minutos, novamente o extrato submetido ao processo de centrifugação a 2000 x g. Os extratos foram transferidos para um balão volumétrico de 25 mL e o volume aferido com água ultrapura.

3.1.3 Determinação de fenólicos totais (FT)

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado nos extratos com o reativo de Folin-Ciocalteau (SINGLETON; ROSSI, 1965) com as leituras realizadas a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis modelo HP 8452A Hewlett-Packard (Cheadle Heath, Stockport Cheshire, UK). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente ao ácido gálico (EAG) por grama de polpa de peso fresco (mg EAG/g).

3.1.4 Determinação de antocianinas monoméricas totais (AMT)

Para a quantificação de antocianinas monoméricas totais realizou-se a extração por maceração à frio de 1g de polpa de juçara com 50 mL de metanol 1,5 M HCl em frasco âmbar a temperatura de 5 ± 2°C por 24h. Em sequência os extratos foram centrifugados a 2000 x g por 15 minutos aferidos volume a 50 mL e quantificados o teor de antocianinas (BORGES et al., 2011). Para a quantificação desses compostos utilizou-se o método descrito por Giusti e Wrolstad, 2001, os extratos foram submetidos a condições distintas de pH e efetivadas medidas a 510 nm e a 700 nm usando espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo HP 8452A (CheadleHeath, Stockport, Cheshire, UK). O

conteúdo de antocianinas monoméricas totais expressas em mg cianidina3-glicosídeo 100 g^{-1} de polpa fresca.

3.1.5 Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A avaliação da atividade antioxidante dos frutos de juçara foi quantificada através da capacidade dos antioxidantes presentes nos extratos sequestrar/retardar o radical estável DPPH de acordo com o método descrito por Brand Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de trabalho de DPPH com absorvância cerca de $0,980 \pm 0,02$ em 515 nm foi preparada a partir de uma solução estoque DPPH 0,06 mM DPPH. Uma alíquota 2,9 mL da solução de trabalho do DPPH foi adicionada a uma cubeta e realizada a leitura da absorvância a 515 nm ($t_{0\text{min}}$), após adicionou-se 100 μL do extrato em concentrações variadas. A solução foi homogeneizada e incubada no escuro durante 30 min à temperatura ambiente. Em seguida, realizou-se a leitura em 515 nm da absorvância final ($t_{30\text{min}}$). A porcentagem de inibição do radical DPPH foi calculada a partir das absorvâncias do radical obtidos das diferentes concentrações dos extratos.

3.2 ESTUDO IN VIVO

3.2.1 Teste piloto

O estudo piloto envolveu 6 participantes recrutados de acordo com os fatores de inclusão do estudo demonstrados posteriormente (item 3.2.3). As análises bioquímicas realizadas para avaliação da capacidade antioxidante e da oxidação de macromoléculas estão descritas no item 3.2.7, ou seja, todos os parâmetros da pesquisa em questão.

3.2.2 Delineamento do estudo

A determinação da atividade antioxidante *in vivo* foi avaliada através de um ensaio clínico randomizado do tipo cross-over. Os participantes foram randomizados para fazerem parte do Grupo Juçara (GJ) ou Grupo Água (GA), recebendo a quantidade de 450 mL, de suco do fruto juçara ou água, de acordo com seu grupo de alocação. Após uma semana de período *washout*, nova intervenção foi feita com os participantes, sendo realizado o cruzamento dos grupos de tratamentos, GA ou GJ.

Mertens-Talcott e colaboradores (2008), delimitaram o valor de 7 mL/kg de peso, alcançou resultados positivos referentes a capacidade antioxidante plasmática de indivíduos saudáveis, utilizando polpa e suco clarificado de açaí, sendo assim, uma pessoa com 60 kg consumiria cerca de 420 mL. No Brasil, em alguns estados, como Rio de Janeiro, a ingestão habitual de açaí é em torno de 500 g (GUIMARÃES, 1999).

3.2.3 Tamanho e critérios para seleção da amostra

Em estudos prévios que avaliaram o efeito do consumo agudo de polpa de açaizeiro (*Euterpe oleracea*) sobre a atividade antioxidante plasmática humana, apresentaram tamanho da amostra que variou entre 12 e 14 indivíduos (JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008). Neste trabalho, o grupo de estudo foi composto inicialmente por 12 voluntários, com idade entre 21 e 31 anos, no entanto ocorreu a perda de um dos participantes por não cumprimento dos critérios de inclusão.

Os indivíduos foram selecionados de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: não fumantes, não usuários de bebidas alcoólicas, não usuários de suplementos vitamínicos e não portadores de quaisquer doenças, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos três meses antes do estudo, além de não possuir diagnóstico nutricional de sobrepeso ou obesidade.

Os participantes foram recrutados de forma intencional, que atenderam aos fatores de inclusão do estudo, a partir de alunos matriculados nos cursos de graduação ou pós-graduação da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para melhor observar o efeito do consumo agudo do fruto de juçara sobre a atividade antioxidante *in vivo* os participantes foram orientados, verbalmente e por escrito (APENDICE A), para durante as 48h antecedentes ao estudo, realizarem refeições equilibradas evitando-se alimentos e bebidas ricos em antioxidantes, como frutas, verduras, chocolate, café e chás, além de bebidas alcoólicas, ou seja, deveriam seguir dieta pobre em polifenóis nas 48h precedentes. Todos os participantes também foram orientados a não praticarem exercício físico, além de não se privarem da noite de sono antecedente ao estudo. O jejum delimitado foi de 8h (MERTENS-TALCOTT et al., 2008).

O Quadro 2 traz o detalhamento de alimentos que foram permitidos ou restringidos durante o período de dieta pobre em antioxidantes, no período de 48h, previamente às intervenções com fruto de juçara e água.

Quadro 2: Detalhes dos alimentos e bebidas restringidos durante a dieta pobre em antioxidantes:

Alimentos permitidos	Alimentos não permitidos
Carne vermelha, suíça, frango,	Todas as frutas
Queijo	Legumes e verduras
Pão branco	Sucos de frutas ou vegetais
Arroz branco	Refrigerantes
Macarrão comum (não integral)	Vinho, cerveja, drinks <u>alcoólicos</u>
Manteiga	Chás e cafés
Leite	Chocolates e bebidas à base de chocolate
	Geleias e marmeladas
	Molho de tomate, <u>curry</u> , <u>pimenta</u>
	Cereais matinais
	Bolos

Fonte: Maffei et al., 2006

3.2.4 Procedimentos éticos

Os participantes foram convidados sem qualquer constrangimento e, mediante aceitação voluntária, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO A), segundo resolução do Conselho Nacional de Saúde, nº 196, de 10 de outubro de 1996 (BRASIL, 1996). Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética com pesquisas em seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sendo aprovado sob o número 03412112.5.0000.0121 (ANEXO B).

3.2.5 Caracterização nutricional do grupo de estudo

Para a caracterização nutricional dos participantes, foram coletadas informações sobre idade, peso, altura e consumo alimentar. As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), sendo o peso, expresso em quilogramas (kg), é dividido pela estatura ao quadrado em metros. O IMC foi usado como indicador do estado nutricional, utilizando-se como parâmetro a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000). Para a

obtenção dos dados sobre o consumo alimentar, foram realizados registros alimentares nas 48h precedentes às intervenções alimentares, sendo estes registrados pelos próprios participantes, em cada uma das etapas do estudo, durante a dieta pobre em antioxidantes, com o intuito de verificar o seguimento dos participantes às orientações.

3.2.6 Monitoramento do estado de saúde dos participantes

Foram realizados exames laboratoriais para garantia de participantes com o estado de saúde adequado ao estudo. Foram avaliadas ureia e creatinina por meio de kits enzimáticos utilizando-se técnica colorimétrica, em espectrofotômetro automático Cobas Mira®. O hemograma completo e atividades das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase também foram avaliados em analisador de bioquímica clínica Cobas Mira®. A glicemia de jejum foi avaliada pelo método da glicose-oxidase/peroxidase segundo as instruções do fabricante (Wiener Laboratórios S.A.I.C. - Rosario, Argentina), já o ácido úrico foi determinado através do método de Trinder, baseado no sistema oxidase/peroxidase, de acordo com as instruções do fabricante (Gold Analisa, Minas Gerais, Brasil).

O perfil lipídico foi avaliado por meio das concentrações séricas de colesterol total (CT) e dos triglicerídeos (TG) por métodos automatizados e colorimétricos (Trinder), e o HDL-colesterol foi determinado por método homogêneo (Dade-Behring, Alemanha). O LDL-colesterol foi calculado pela equação de Friedewald [$LDL-C = CT - (HDL + TG/5)$] (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). Todas as análises foram feitas em equipamento automatizado (Cobas-Mira Plus - Roche, Basel, Suíça) utilizando-se reagentes Labtest (Lagoa Santa – MG). O Não-HDL-c foi calculado pela diferença entre o CT e o HDL-c ($Não-HDL-c = CT - HDL-c$). Os exames foram realizados no 1º dia da 1ª etapa do estudo cross-over.

3.2.7 Análises bioquímicas

3.2.7.1 Coleta e tratamento das amostras sanguíneas

As análises bioquímicas ocorreram no Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenado pelo professor Dr. Edson Luiz da Silva.

As coletas sanguíneas para a realização das análises bioquímicas foram feitas antes, chamado T0 (tempo 0), além de 1h, 2h e 4h após o consumo de juçara ou tratamento controle, água. Estes tempos foram estipulados com bases em outros estudos, que buscaram avaliar o efeito da ingestão única de frutos ricos em antocianinas sobre a capacidade antioxidante plasmática de indivíduos saudáveis (HASSIMOTTO et al., 2008; MAZZA et al., 2002). Foram coletadas amostras sanguíneas (8 mL) dos voluntários, em cada tempo avaliado, após jejum de 8h, através de punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo, por um profissional da área da farmácia, (Vacutainer-BD-São Paulo/Brasil) em tubos secos ou com ácido etileno-diaminoacético (EDTA).

O extrato ácido foi preparado a partir do sangue coletado no tubo com EDTA para posterior análise de GSH. Em seguida, para obtenção do soro e do plasma o sangue foi centrifugado a 1000 x g por 10 min. Para preparo do extrato ácido, após a coleta de sangue com EDTA, a amostra foi transferida para microtubos tipo Eppendorf, 600 µL de sangue e 300 µL ácido tricloroacético (TCA) 20%, agitado posteriormente em aparelho tipo vortex e centrifugado 5000 x g, 4 °C por 10 min. O sobrenadante límpido foi utilizado nas análises de GSH.

Para a determinação das enzimas antioxidantes, GPx, SOD e CAT foi utilizado um hemolisado, a partir de 100 µL de células (hemácias) juntamente com 1 mL de solução hemolisante (Solução de MgSO₄ 4nM e Ácido Acético 1 nM).

Para obter o hemolisado, alíquotas de sangue total foram separadas em dois micro-tubos tipo Eppendorf (1mL de sangue em cada tubo). Após centrifugação, 700 x g, por 10 minutos a 4°C, o plasma foi transferido para outro micro-tubo para análises posteriores. Com o plasma retirado, as hemáceas foram utilizadas. Ocorreram 3 lavagens com solução fisiológica, de maneira suave, homogeneizando as células com pipeta de Pasteur, havendo a centrifugação a 700 x g, 10 minutos a 4°C, a cada lavagem. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e houve o complemento com o mesmo volume de solução fisiológica, sendo separados 100 µL destas células juntamente com 1 mL de Solução Hemolisante.

As amostras foram alocadas em - 80 °C até momento de sua utilização, sendo o tempo de armazenagem padronizado para as duas etapas do estudo.

3.2.7.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante sérica foi determinada através do potencial antioxidante redutor férrico (Ferric Reducing /Antioxidant Potential - FRAP) de acordo com a técnica descrita por Benzie e Strain (1996). Neste ensaio, os antioxidantes presentes no plasma foram avaliados como redutores do Fe^{+3} a Fe^{+2} , o qual é quelado pela 2,4,6-tri (2-pyridil)-s-triazina (TPTZ) para formar o complexo Fe^{+2} -TPTZ com absorvância máxima em 593 nm. A capacidade antioxidante, expressa em equivalentes de trolox (Eqtrolox), foi calculada, utilizando-se a equação da reta com os valores da concentração e da absorvância da curva-padrão, preparada com diferentes concentrações de trolox, um análogo hidrossolúvel da vitamina E.

3.2.7.3 Ácido úrico

A concentração sérica de ácido úrico foi determinada, para monitoramento do estado de saúde dos participantes e da atividade antioxidante sanguínea nos mesmos, através do método de Trinder, baseado no sistema oxidase/peroxidase, de acordo com as instruções do fabricante (Gold Analisa, Minas Gerais, Brasil). Os resultados do ácido úrico foram expressos em mmol/L.

3.2.7.4 Glutaciona reduzida

A glutaciona reduzida (GSH) foi determinada a partir de alíquota preparada em extrato ácido, através do método proposto por Beutler, Duron e Kelly (1963). A adição de 50 μL de ácido 3-ditionitrobenzóico 10 mM (DTNB) em tubos contendo 800 μL de Tampão fosfato 0,2 M e 50 μL da amostra, possibilita, após cerca de 3 min, a obtenção máxima de formação do ânion tiolato (TNB) de cor amarela, de absorvância máxima em 412 nm. O branco foi preparado substituindo-se o extrato ácido por água deionizada. A concentração de GSH ($\mu\text{mol/L}$) foi calculada, utilizando-se a equação da reta com os valores da concentração e da absorvância da curva-padrão preparada com diferentes concentrações de GSH.

3.2.7.5 Glutaciona peroxidase

A glutaciona peroxidase (GPx) atua sobre vários substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutaciona reduzida (GSH) para formar glutaciona oxidada (GSSG) e o produto de redução do hidroperóxido.

Fisiologicamente, a GPx atua acoplada à enzima glutationa redutase (GR) que, por sua vez, catalisa a redução de GSSG, usando NADPH como coenzima. A atividade da GPx pode ser medida pela taxa de oxidação de NADPH na presença de GSH e GR. A azida sódica (N_3Na) é adicionada para inibir a catalase (WENDEL, 1981).

Os reagentes utilizados foram: tampão fosfato 143 mM pH 7,5 EDTA 1 mM, NADPH 0,29 mM, azida sódica 100 mM, GSH 20 mM, GR 10 U/mL, t-butil-hidroperóxido 10 mM, KCN 9 mM. Por fim, 5 μL de amostra foram adicionados e a leitura foi feita imediatamente no analisador bioquímico semi-automático modelo BIO-2000 (Bioplus[®]), conforme programação já previamente configurada.

3.2.7.6 Catalase

A atividade da catalase é diretamente proporcional à decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e baseia-se na medida da velocidade de consumo deste na amostra estudada. A determinação da catalase foi realizada através do monitoramento da decomposição do H_2O_2 durante 2 minutos em 240 nm (AEBI, 1984). Em cubetas de quartzo de 1mL, foram adicionados 955 μL de tampão fosfato 50 mM (pH 7,0), 35 μL de H_2O_2 0,3 M e 10 μL de amostra. A variação da absorbância a 240 nm por unidade de tempo foi registrada e utilizada para o cálculo da atividade enzimática da catalase.

3.2.7.7 Superóxido dismutase

A determinação da superóxido dismutase (SOD) é baseada na inibição da reação do radical superóxido com a adrenalina. A SOD presente na amostra em estudo compete pelo radical superóxido com o sistema de detecção. A oxidação da adrenalina leva à formação de um produto colorido, o adrenocromo, detectado através de leituras da absorbância em espectrofotômetro (BOVERIS et al., 1983). A atividade da SOD foi determinada medindo-se a velocidade de formação do adrenocromo em meio de reação contendo 1mL de tampão glicina (50 mM, pH 10,0). Após adição de 10 μL de adrenalina (60 mM, pH 2,0), a leitura é iniciada em 480 nm.

Além disso, para a avaliação das enzimas antioxidantes, foi realizada a quantificação da proteína da amostra por determinação de proteínas segundo a técnica de Bradford (1976) utilizando a albumina bovina como padrão. Alíquotas dos lisados celulares (50 μL) foram adicionadas em 2 mL de azul de Coomassie e mantidas em ambiente

escuro, à temperatura ambiente, por 5 min e a leitura da absorbância foi realizada em 595 nm.

3.2.7.8 Hidroperóxidos lipídicos

Os hidroperóxidos lipídicos presentes no soro foram determinados pelo método da oxidação do ferro com alaranjado de xilenol (FOX – do inglês, Fe^{+3} xylenolorange), conforme descrito por Jiang e colaboradores (1992). O princípio do método se baseia na rápida oxidação do Fe^{+2} a Fe^{+3} em meio ácido, mediada pelos peróxidos lipídicos. O Fe^{+3} , na presença de alaranjado de xilenol, forma um complexo (Fe^{+3} -alaranjado de xilenol) que é quantificado espectrofotometricamente em 560 nm. A concentração de hidroperóxidos lipídicos ($\mu\text{mol/L}$) foi calculada, utilizando-se a equação da reta com os valores da concentração e da absorbância da curva-padrão, preparada com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e da diferença entre as absorbâncias das amostras tratadas com metanol (branco) e das amostras tratadas com TPP (trifenilfosfina).

3.3 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As eventuais diferenças promovidas pela administração dos dois tratamentos, suco de juçara e água e os tempos analisados foram detectadas pela análise de variância para medidas repetidas (RM-ANOVA), considerando em seu modelo, tipo de tratamento, tempo e interação entre o tipo de tratamento e o tempo. Para a comparação das mudanças relativas entre os tratamentos suco de juçara e água, em determinados tempos, foi realizado o teste pareado para medidas não paramétricas Wilcoxon (signed rank test). Foram estabelecidas correlações de Pearson ou Spearman, de acordo com a simetria dos dados. Foi considerado nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$) e os dados foram analisados no *software* estatístico Stata versão 11.0.

CAPÍTULO 4 – ARTIGO ORIGINAL

Revista: Journal of Agricultural and Food Chemistry

CONSUMO AGUDO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Resumo

O gênero *Euterpe* origina espécies de palmeiras, dentre as quais, deriva a popularmente conhecida juçara (*Euterpe edulis*), encontrada no Brasil. Os frutos de juçara possuem propriedades sensoriais e nutritivas similares às do fruto do açaizeiro. As propriedades benéficas destes frutos têm chamado a atenção de pesquisadores, especialmente pela quantidade de antioxidantes. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do consumo agudo do suco do fruto juçara sobre os biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis. Este estudo de intervenção, caracterizado como um ensaio clínico *cross-over*, utilizando-se o suco de juçara e água como controle. Onze voluntários saudáveis foram avaliados antes e após 1h, 2h e 4h ao consumo do suco e água. Os parâmetros avaliados foram: potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), ácido úrico, glutathiona reduzida (GSH), glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e hidroperóxidos lipídicos (HL). Análises de variância para medidas repetidas revelaram efeito significativo do tratamento nos desfechos FRAP e GPx, além de interação significativa entre tipo de tratamento e tempo no parâmetro referente à oxidação lipídica (HL). Foi observada correlação moderada entre FRAP e ácido úrico ($r = 0,31$, $p = 0,03$). A partir das mudanças relativas médias foi observado acréscimo de 21,3% após a 1ª hora de ingestão e 16,1% na 2ª hora no parâmetro GSH. HL diminuiu de 13,5%, 16% e 18,7%, ao longo da 1ª, 2ª e 4ª após o consumo do suco. No tempo de 2h de ingestão do suco ocorreu elevação máxima nas atividades de SOD, GPx e CAT, sendo estes de 34,3%, 18% e 8,5% respectivamente. A ingestão do suco de juçara evidenciou efeito do tratamento para o FRAP e atividade enzimática de GPx além de interação e diminuição da peroxidação lipídica ao longo do tempo. Estudos que investiguem as propriedades antioxidantes do fruto juçara no organismo humano bem como a biodisponibilidade de seus flavonoides são necessários.

Palavras-chaves: ensaio clínico, fruto juçara, antocianinas, *Euterpe edulis*, atividade antioxidante.

ABSTRACT

The genus *Euterpe* stems palm species, which derives the popularly known juçara (*Euterpe edulis*), found in Brazil. The juçara fruits have similar nutritional and sensory properties of the fruit of the Acai Palm. The beneficial properties of these fruits have drawn the attention of researchers, especially by the amount of antioxidants. The present study aimed to evaluate the effect of acute consumption of juçara's juice on biomarkers of oxidative stress in healthy subjects. This study intervention is characterized as a cross-over clinical trial, using juçara's juice and water as control. Eleven healthy volunteers were evaluated before and after 1h, 2h and 4h consumption of juice and water. The parameters evaluated were: ferric reducing antioxidant potential (FRAP), uric acid, reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and lipid hydroperoxides (LH). Analyses of variance for repeated measures revealed a significant effect of treatment on outcomes FRAP and GPx, and a significant interaction between type of treatment and time in the parameter related to lipid oxidation (HL). Moderate correlation was observed between FRAP and uric acid ($r = 0.31$, $p = .03$). From the relative average changes it was observed an increase of 21.3% after the 1st hour of ingestion and 16.1% in the 2nd time in parameter GSH. LH decreased 13.5%, 16% and 18.7% over the 1st, 2nd and 4th after drinking the juice. At the time of 2h juice ingestion occurred maximum elevation in the activities of SOD, CAT and GPx, which are 34.3%, 18% and 8.5% respectively. The juice ingestion showed juçara juice treatment effective for the FRAP and enzymatic activity of GPx and interaction of lipid peroxidation and decreased over time. Studies that investigate the antioxidant properties of the fruit juçara in the human body as well as the bioavailability of its flavonoids are needed

Keywords: clinical trial, jussara fruit, anthocyanins, *Euterpe edulis*, antioxidant status.

INTRODUÇÃO

Evidências epidemiológicas demonstram que ingestão de frutas e vegetais, ricos em polifenóis, reduzem o risco de muitas doenças crônicas não transmissíveis^{1,2,3}. Estudos têm avaliado os efeitos benéficos do consumo do fruto do açaí e seus compostos despertando a atenção de pesquisadores devido seu alto teor antioxidante^{4, 5, 6, 7}. A

fruta conhecida no Brasil como açai é proveniente da espécie de palmeira *Euterpe oleracea*. No entanto, a espécie *Euterpe edulis* origina frutos similares aos frutos da *Euterpe oleracea*, denominados fruto juçara, emergindo interesse nestes por ser uma fonte promissora de antioxidantes^{8, 9, 10, 11, 12}.

As antocianinas são os principais antioxidantes do fruto juçara, as quais são pigmentos pertencentes à família dos flavonoides^{8, 13, 11}. A atividade antioxidante das antocianinas ocorre através da doação de elétrons ou átomo de hidrogênio de sua hidroxila aos radicais livres¹⁴. O excesso de radicais livre e/ou espécies reativas (ER) pode ser combatido pelo sistema de defesa antioxidante do organismo, sendo este produzido pelo próprio corpo ou absorvido através da dieta¹⁵. As espécies reativas constituem substâncias reativas instáveis, geradas *in vivo*, tanto em condições fisiológicas quanto em condições patológicas. Quando atuam como agentes oxidantes, as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) causam efeitos prejudiciais, tais como a oxidação do DNA, proteínas, aminoácidos, lipídeos e outras biomoléculas, resultando em uma variedade de consequências biológicas^{16, 17}.

Especula-se que o fruto juçara venha a ser considerado um “super fruto” devido sua composição nutricional e teor de antioxidantes. A avaliação toxicológica na identificação de efeitos adversos sobre a saúde humana obteve resultados positivos cumprindo assim o pré-requisito para o avanço do desenvolvimento de novos medicamentos, cosméticos e alimentos a partir deste fruto¹². No entanto, destaca-se que até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura referentes ao efeito do consumo agudo dos frutos juçara sobre a atividade antioxidante e a proteção contra danos oxidativos em humanos.

Por estas razões e com o intuito da promoção e valorização de novas fontes alimentares ricas em antioxidantes, ponderando que até o presente momento não foram encontrados estudos publicados que avaliaram o efeito do consumo do suco de juçara sobre o potencial antioxidante humano, objetiva-se avaliar o efeito do consumo do suco de juçara (*Euterpe edulis*) sobre a atividade antioxidante não enzimática e enzimática, e peroxidação lipídica em indivíduos saudáveis.

Material e Métodos

População do estudo

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética com pesquisas em seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina e os participantes foram convidados a participar do estudo sem qualquer constrangimento e, mediante aceitação voluntária, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), segundo resolução do Conselho Nacional de Saúde, nº 196, de 10 de outubro de 1996¹⁸.

Os indivíduos foram selecionados de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: apresentarem parâmetros bioquímicos de função renal, hepática, perfil lipídico e glicemia de jejum dentro da faixa de normalidade, não fumantes, não usuários de bebidas alcoólicas, não usuários de suplementos vitamínicos e não portadores de quaisquer patologias, processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos três meses antes do estudo, e não possuir diagnóstico nutricional de sobrepeso ou obesidade. A caracterização nutricional dos participantes foi realizada através dos dados de referentes à idade, peso, altura e consumo alimentar. As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC), em que o peso expresso em quilograma (kg) é dividido pela estatura em metros ao quadrado (m²)²⁵. O grupo de estudo foi composto por 11 voluntários, com idade entre 24 e 30 anos (média = 26,9 ± 1,8 anos), com índice de massa corporal entre 18,8 a 24,0 kg/m².

Inicialmente 12 indivíduos foram recrutados para este estudo, porém 1 indivíduo foi excluído por apresentar exames laboratoriais de perfil lipídico acima dos padrões de referência, sendo caracterizado como dislipidêmico. Os 11 indivíduos remanescentes completaram os dois tratamentos, sendo realizadas todas as análises propostas neste estudo, com exceção da enzima catalase, o qual participaram somente 6 dos 11 indivíduos devido a problemas técnicos laboratoriais. Não foram observados eventos adversos, fatalidades ou efeitos colaterais durante toda a duração do estudo.

Tratamentos do estudo

As amostras do suco de juçara foram produzidas por empresa especializada, seguindo a técnica de padronização de processamento e pasteurização, sendo os frutos da safra de novembro de 2012.

As metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemicals*¹⁹ foram realizadas para a determinação do conteúdo de matéria seca, acidez titulável (AT), proteína, cinzas e pH.

Para complementar a caracterização química do fruto de juçara foram realizadas as determinações de fenólicos totais, antocianinas

monoméricas totais e atividade antioxidante pelo método do DPPH, com a obtenção do extrato para a determinação destes parâmetros sendo realizada de acordo com o método previamente descrito¹¹.

O conteúdo de fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método espectrofotométrico com reagente de Folin-Ciocalteu²⁰ com leituras realizadas a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis modelo HP 8452A Hewlett-Packard (Cheadle Heath, Stockport Cheshire, UK).

A avaliação da atividade antioxidante dos frutos de juçara foi quantificada através da capacidade dos antioxidantes presentes nos extratos sequestrar/retardar o radical estável DPPH[•] de acordo com o método descrito por Brand Williams, Cuvelier & Berset (1995)²¹.

Para a quantificação de antocianinas monoméricas totais realizou-se a extração por maceração a frio de 1g de polpa de juçara com 50 mL de metanol 1,5 M HCl em frasco âmbar a temperatura de $5 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24h conforme previamente descrito²². Para a quantificação desses compostos os extratos foram submetidos a condições distintas de pH e efetivadas medidas a 510 nm e a 700 nm²³ usando espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo HP 8452A (CheadleHeath, Stockport, Cheshire, UK). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais foram expressas em mg de cianidina3-glicosídeo 100 g⁻¹ de polpa.

Desenho do estudo

O estudo caracteriza-se como um ensaio clínico randomizado do tipo cross-over. Os participantes foram randomizados para fazerem parte do Grupo Juçara (GJ) ou Grupo Água (GA), recebendo a quantidade estabelecida de 450 mL, de acordo com seu grupo de alocação. Após uma semana de período *washout*, os tratamentos foram cruzados entre os participantes de cada grupo, GJ ou GA.

Para melhor observar o efeito do consumo agudo do suco de juçara sobre a atividade antioxidante *in vivo* os participantes foram orientados, verbalmente e por escrito, para durante as 48h antecedentes ao estudo, realizarem refeições equilibradas restringindo-se alimentos e bebidas ricos em antioxidantes, como frutas, verduras, chocolate, café e chás, além de bebidas alcoólicas, ou seja, seguindo uma dieta pobre em polifenóis nas 48h precedentes.

Para a obtenção dos dados sobre o consumo alimentar foram realizados registros alimentares nas 48h precedentes às intervenções alimentares, em cada uma das etapas do estudo, referente à dieta pobre em antioxidantes, com o intuito de verificar o seguimento dos participantes às orientações. Alimentos permitidos para este período

foram: carne bovina, suína, frango, queijos, pão branco, arroz branco, macarrão comum (não integral), manteiga e leite²⁴. Todos os participantes foram orientados a não praticarem exercício físico, além de não se privarem da noite de sono antecedente ao estudo. O jejum foi de 8h⁵.

Para o monitoramento do estado de saúde dos participantes foram realizados exames laboratoriais como ureia, creatinina, atividade das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e glicemia de jejum através de kits comerciais de acordo com as instruções do fabricante, utilizando-se técnica colorimétrica, em espectrofotômetro automático Cobas Mira®. O perfil lipídico foi avaliado através das concentrações séricas de colesterol total (CT) e dos triglicérides (TG) pelos métodos colorimétricos (Trinder), usando as enzimas colesterol-oxidase e glicerol-oxidase. A fração de HDL-colesterol (HDL-c) foi determinado por método homogêneo. O LDL-colesterol (LDL-c) foi calculado pela fórmula de Friedwald: $LDL-c = CT - (HDL-c + TG/5)$ ²⁶. O Não-HDL-c foi calculado pela diferença entre o CT e o HDL-c (Não-HDL-c = CT - HDL-c).

Teste Piloto

O estudo piloto envolveu 6 participantes recrutados de acordo com os fatores de inclusão do referido estudo, demonstrados anteriormente. Todos os parâmetros bioquímicos utilizados no estudo principal foram feitos no estudo piloto, afim de ajustar a técnicas e verificar a viabilidade das análises.

Coleta, preparo e análises sanguíneas

Foram coletadas amostras sanguíneas (32 mL) dos voluntários, após jejum de 8h, através de punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo, por um profissional da área da farmácia, (Vacuntainer-BD-São Paulo/Brasil) em tubos secos ou com ácido etileno-diaminoacético (EDTA).

As coletas sanguíneas para a realização das análises bioquímicas foram feitas antes do consumo, tempo 0 (T0) e 1h (T1), 2h (T2) e 4h (T4) após o consumo de suco de juçara e água. Os tempos foram estipulados com bases em outros estudos, que buscaram avaliar o efeito da ingestão de frutos ricos em antocianinas sobre a capacidade antioxidante plasmática de indivíduos saudáveis^{27,28}. O potencial antioxidante foi analisado através das enzimas glutathione peroxidase

(GPx do inglês *Glutathione Peroxidase*), superóxido dismutase (SOD do inglês *Superoxide Dismutase*) e catalase (CAT do inglês *Catalase*), capacidade antioxidante pelo potencial antioxidante redutor férrico (FRAP do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Potential*), glutathiona reduzida (GSH do inglês *Reduced Glutathione*) e ácido úrico, e oxidação de macromoléculas hidroperóxidos lipídicos (FOX – do inglês, Fe⁺³xilenolorange).

O extrato ácido foi preparado a partir do sangue coletado no tubo com EDTA para posterior análise de GSH²⁹. Em seguida, para obtenção do soro e do plasma o sangue foi centrifugado a 1000 x g por 10 min.

Para a determinação das enzimas antioxidantes, GPx, SOD e CAT foi utilizado um hemolisado, partindo-se de 100 µL de células (hemácias) juntamente com 1 mL de solução hemolisante (Solução de MgSO₄ 4nM e Ácido Acético 1 nM). Para obter o hemolisado, alíquotas de sangue total foram separadas em dois micro-tubos tipo Eppendorf (1mL de sangue em cada tubo). Após centrifugação, 700 x g, por 10 minutos a 4°C, o plasma foi transferido para outro micro-tubo para análises posteriores. Com o plasma retirado, as hemáceas foram utilizadas. Ocorreram 3 lavagens com solução fisiológica (o mesmo volume de células). O mesmo foi centrifugado a 700 x g, 10 minutos a 4°C, entre cada lavagem. Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e ocorreu o complemento com o mesmo volume de solução fisiológica. Cerca de 100µL de células juntamente com 1 mL de Solução Hemolisante foram separados em alíquotas.

A GSH foi determinada a partir de alíquota preparada em extrato ácido, através do método proposto por Beutler, Duron e Kelly³⁰.

A atividade antioxidante plasmática foi determinada através do FRAP de acordo com a técnica descrita por Benzie e Strain³¹.

Os hidroperóxidos lipídicos presentes no soro foram determinados pelo método FOX, conforme descrito por Jiang e colaboradores³².

A SOD foi baseada na inibição da reação do radical superóxido com a adrenalina. A oxidação da adrenalina leva à formação de um produto colorido, o adrenocromo, detectado através de leituras da absorbância em espectrofotômetro³³. A atividade da GPx foi medida pela taxa de oxidação de NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato) na presença de GSH e glutathiona redutase (GR)³⁴.

A determinação da CAT foi realizada através do monitoramento da decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) de acordo com o método descrito por Aebi³⁵.

Para a avaliação das atividades enzimáticas, foi realizada a quantificação da proteína da amostra por determinação de proteínas segundo a técnica de Bradford³⁶.

Análises Estatísticas

Inicialmente, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. As eventuais diferenças promovidas pela administração dos dois tratamentos, suco de juçara e água e os tempos analisados foram detectadas pela análise de variância para medidas repetidas (RM-ANOVA), considerando em seu modelo, tipo de tratamento, tempo e interação entre o tipo de tratamento e o tempo. Para a comparação das mudanças relativas entre os tratamentos suco de juçara e água, em determinados tempos, foi realizado o teste pareado para medidas não paramétricas Wilcoxon (signed rank test). Foram estabelecidas correlações de Pearson ou Spearman, de acordo com a simetria dos dados. Os dados foram analisados no *software* estatístico Stata versão 11.0 e foi considerado um nível de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Composição química do suco de juçara. A tabela 1 mostra a composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara. Percebe-se que as antocianinas possuem grande relevância na composição antioxidante desta bebida.

Tabela 1: Análises de composição e propriedades antioxidantes do suco de juçara:

Parâmetros Avaliados	Suco Juçara (100 mL)		Suco Juçara (450 mL)
	Média	DP	Média
Umidade (%)	97,23	0,71	437,5
Cinzas (%)	0,23	0,09	1,0
Proteínas (%)	1,06	0,10	4,7
Fenólicos totais*	442,71	13,14	1992,1
Atividade antioxidante (DPPH)**	2801,99	29,96	12608,9
Antocianinas monoméricas totais***	451,95	6,25	2033,7

DP: desvio-padrão; DPPH, radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Valores expressos em mg equivalente ácido gálico (EAG) 100g⁻¹ peso fresco; **Valores expressos em µmol Trolox 100⁻¹g peso fresco; ***Valores expressos em mg de cianidina 3-glicosídeo 100g⁻¹ peso fresco;

As antocianinas e outros compostos flavonoides compõem os principais fitoquímicos presentes no fruto juçara^{8, 11, 22}. A quantidade de antocianinas administrada neste estudo de 2,03 g em 450 mL de porção servida (451,9 mg antocianinas/100 g peso fresco) a cada indivíduo é superior à quantidade utilizada em outras investigações com frutos ricos em antocianinas. Estudo utilizando suco de amoras com o teor de antocianinas de 102 mg/100 g de peso fresco delimitou a porção servida de acordo com o peso corporal de cada indivíduo, sendo a quantidade administrada calculada a partir de 400 mg de cianidina/ 50 kg de peso corporal²⁷. Martens-Talcott⁵ forneceu polpa de açaí com 97,2 mg/100 g de antocianinas totais e suco de açaí com a quantidade de 53,1 mg/100 mL de antocianinas totais, sendo a porção servida também de acordo com o peso corporal de cada indivíduos, de 7 mL/kg de peso, ou seja, 450 g ou mL de cada tratamento, polpa e suco, teria cerca de 437,4 mg e 238,5 mg de antocianinas, respectivamente. Em investigação com a porção padronizada de 100 g de mirtilo liofilizado dissolvido em 500 mL de água, cada indivíduo recebeu 1,2 g de antocianinas /100 g²⁸.

Atividade antioxidante in vivo. Análises de variância (ANOVA) para medidas repetidas revelaram efeito significativo do tratamento nos desfechos FRAP e GPx. Foi observada interação significativa entre tipo de tratamento e tempo no parâmetro referente à oxidação lipídica FOX. Além disso, ocorreu efeito significativo no

tempo nas variáveis dependentes GSH, ácido úrico e SOD. A tabela 2 demonstra as mudanças absolutas ao longo do tempo nos parâmetros de atividade antioxidante e oxidação lipídica.

Tabela 2: Concentrações dos parâmetros de atividade antioxidante e oxidação lipídica após as intervenções ao longo do tempo:

Medida	Tempo (h)	Tratamentos						
		Água		Juçara		Valor p*	Valor p**	Valor p***
		Média	EPM	Média	EPM			
GSH ^a (μ M)	0	962,9	\pm 39,94	907,6	\pm 47,90	0,98	< 0,001	0,41
1	1075,0	\pm 50,34	1094,4	\pm 56,21				
2	1021,1	\pm 55,58	1045,2	\pm 50,39				
4	989,6	\pm 54,96	1005,1	\pm 43,80				
FRAP ^a (μ M)	0	684,3	\pm 58,56	514,2	\pm 25,92	0,02	0,30	0,44
1	678,6	\pm 62,14	561,1	\pm 18,46				
2	662,7	\pm 57,68	532,8	\pm 29,39				
4	666,6	\pm 57,15	486,3	\pm 44,43				
Ácido úrico ^a (mg/dL)	0	3,5	\pm 0,35	3,3	\pm 0,38	0,75	0,001	0,12
1	3,5	\pm 0,38	3,5	\pm 0,36				
2	3,5	\pm 0,38	3,3	\pm 0,38				
4	3,4	\pm 0,39	3,1	\pm 0,37				
LH ^a (μ M)	0	10,1	\pm 0,79	10,9	\pm 0,97	0,63	0,25	0,02
1	11,5	\pm 1,00	9,6	\pm 1,09				
2	10,9	\pm 0,91	9,6	\pm 1,38				
4	10,1	\pm 1,24	9,5	\pm 1,63				
SOD ^a (USOD/mg proteína)	0	0,393	\pm 0,04	0,484	\pm 0,08	0,05	0,02	0,44
1	0,364	\pm 0,04	0,447	\pm 0,05				
2	0,410	\pm 0,04	0,562	\pm 0,08				
4	0,299	\pm 0,02	0,473	\pm 0,04				
GPx ^a (mU/mg proteína)	0	33,2	\pm 2,44	40,8	\pm 3,99	0,02	0,11	0,80
1	33,2	\pm 1,52	39,0	\pm 1,72				
2	35,8	\pm 2,63	46,3	\pm 5,29				
4	32,0	\pm 2,83	39,7	\pm 2,34				
CAT ^b (U/mg proteína)	0	0,099	\pm 0,01	0,103	\pm 0,01	0,57	0,93	0,55
1	0,097	\pm 0,01	0,098	\pm 0,01				
2	0,086	\pm 0,01	0,108	\pm 0,01				
4	0,097	\pm 0,01	0,104	\pm 0,01				

EPM: Erro-padrão médio; ^a n=11, ^b n = 6, Abreviações: GSH do inglês *Reduced Glutathione*, glutatona reduzida; FRAP do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Potential*, capacidade antioxidante pelo potencial antioxidante redutor férrico; FOX – do inglês, *Fe³⁺xyleneorange*, oxidação de macromoléculas hidroperóxidos lipídicos; SOD do inglês *Superoxide Dismutase*, superóxido dismutase; GPx do inglês *Glutathione Peroxidase*, glutatona peroxidase; CAT do inglês *Catalase*,

catalase. MR-ANOVA: *valor p tratamento; ** valor p tempo; *** valor de p interação tratamento e tempo.

A mudança percentual média foi calculada a partir normalização dos dados pelo valor basal, após a ingestão dos tratamentos, em relação ao seu valor basal, para cada indivíduo. As mudanças relativas nos desfechos FRAP, ácido úrico, GSH e FOX podem ser vistas na figura 1.

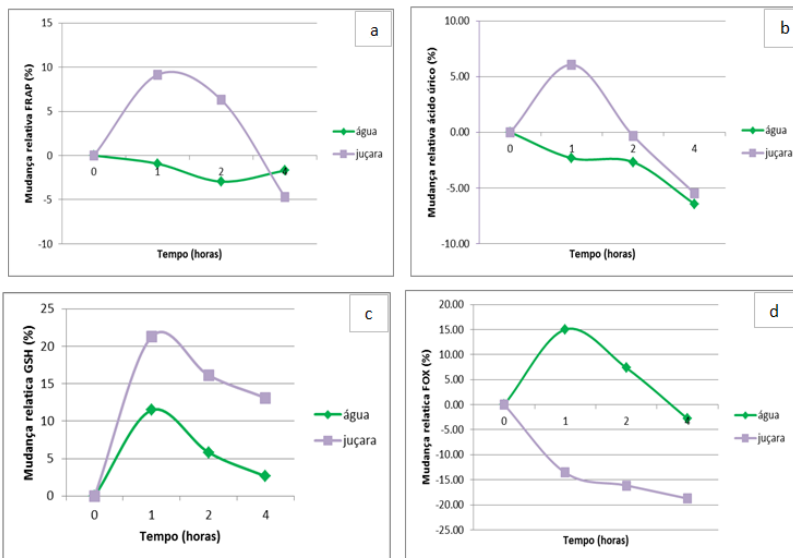


Figura 1: Mudanças relativas no FRAP (a), Ácido úrico (b), GSH (c) e FOX (d)

FRAP do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Potential*, capacidade antioxidante pelo potencial antioxidante redutor férrico; GSH do inglês *Reduced Glutathione*, glutathiona reduzida; FOX – do inglês, Fe^{+3} xyleneorange, oxidação de macromoléculas hidroperóxidos lipídicos.

No presente estudo, após 1^a hora de ingestão do suco de juçara, o potencial antioxidante redutor férrico apresentou aumento percentual médio significativo de 9%, retornando aos valores basais após 4h. As mudanças nas concentrações séricas de ácido úrico no grupo que consumiu juçara evidenciaram tendência similar ao comportamento do FRAP, ocorrendo elevação média percentual, não significativa, de cerca de 6% posterior a 1^a hora. A medida de proteção total antioxidante geralmente está correlacionada com as concentrações de ácido úrico e

esta investigação denotou correlação positiva moderada entre FRAP e ácido úrico ($r = 0,31$, $p = 0,03$). O aumento concomitante de FRAP e ácido úrico demonstra a contribuição do ácido úrico no potencial antioxidante sérico, visto que se estima uma contribuição do ácido úrico de até 60%, enquanto os compostos fenólicos contribuem com cerca de 5%³¹. No entanto, considerando a elevação máxima das concentrações de FRAP e ácido úrico após 1ª hora de consumo do suco, percebe-se que o potencial antioxidante redutor férrico excede em 3% o aumento denotado pelo ácido úrico, sugerindo que outros componentes podem estar influenciando o potencial antioxidante sérico.

O estudo de Jin e colaboradores³⁷ que avaliou, antes e ao longo de 8 horas, a ingestão de 250 mL de suco de groselha 20% e bebida controle, em 20 indivíduos saudáveis, não demonstrou efeito significativo sobre a atividade antioxidante através dos métodos ORAC e FRAP. Ambos os tratamentos continham solução de ácido cítrico (50%), aspartame (1%), e acesulfame K (8%). No entanto, foi encontrado que o ácido úrico plasmático foi correlacionado com os valores de FRAP nos tempos 0-8 horas após o consumo do suco e com os valores de ORAC no tempo de 3h no grupo teste. Neste mesmo estudo, os valores de FRAP tiveram uma queda significativa com o tempo, mas não houve efeito do tratamento. Esta queda reflete a redução significativa do ácido úrico plasmático, conferindo uma importante contribuição do ácido úrico para a atividade antioxidante plasmática. Do mesmo modo, com o intuito de avaliar o efeito da ingestão de dose única de 400 mL de suco de uvas e *berries*, contendo 286 mg de antocianinas e 170 mg de catequinas, Garcia-Alonso e colaboradores³⁸ utilizaram 12 indivíduos saudáveis, não detectando alterações significativas nos valores de FRAP, ácido úrico e vitamina C após 1h, 2h, 4h e 6h de consumo. Estes autores³⁸ também demonstraram comportamento semelhante para FRAP e ácido úrico, ocorrendo aumento não significativo, entre 1h e 2h após a ingestão do suco.

Em investigação com a polpa pasteurizada de açaí, suco clarificado de açaí, bebida a base de água (controle) e suco de maçã concentrado, na qual se utilizou a quantidade de 7 mL/kg de peso corporal para cada tratamento, os valores de ácido úrico também não foram alterados, apesar de ter ocorrido aumento significativo da atividade antioxidante medida pelo método *ORAC* (do inglês *Oxygen Radical Absorbance Capacity*), após os tratamentos, polpa de açaí e concentrado de maçã. Ao longo das 12h avaliadas, os autores demonstraram absorção e efeito antioxidante das antocianinas no plasma

de 11 indivíduos saudáveis, com tempo máximo de absorção no tempo de 2h⁵.

Apesar de não ter demonstrado alterações significativas ao longo do tempo, a mudança relativa média no parâmetro GSH foi de um acréscimo de 21,3% após a 1ª hora de ingestão do suco de juçara, 16,1% na 2ª hora e 13,1% na 4ª hora. Duthie e colaboradores³⁹ encontraram valores similares após a administração de 750 mL/dia de suco de cranberry (oxicoco) e placebo, em 20 mulheres saudáveis, por duas semanas, para as concentrações de glutatona reduzida (GSH).

No estudo proposto, as concentrações séricas de HL, denotaram interação significativa entre o tipo de tratamento e o tempo. Além disso, considerando os valores médios de mudanças relativas, demonstraram diminuição de 13,5%, 16% e 18,7%, ao longo da 1ª, 2ª e 4ª hora após a ingestão do suco de juçara. Os dados de Jensen e colaboradores⁴ também sugerem uma rápida redução na peroxidação lipídica *in vivo*, por meio da avaliação do parâmetro das Substâncias Reativas ao Tiobarbitúrico (TBARS do inglês Thiobarbituric Acid Reactant Substances), dentro de 2h após o consumo do suco rico em antioxidantes, sendo o açaí o principal ingrediente deste.

De acordo com a figura 1, observa-se na mudança relativa demonstrada pelo parâmetro HL, ao longo da 2h após o consumo do tratamento controle, leve aumento da oxidação lipídica possivelmente devido à produção de espécies reativas produzidas como consequência do metabolismo aeróbio normal. Especula-se que o declínio na atividade antioxidante ocorra devido ao jejum e também pela depleção de antioxidantes derivados dos alimentos ingeridos anteriormente às coletas sanguíneas⁴.

As mudanças relativas médias nas atividades enzimáticas de SOD, GPx e CAT podem ser vistas na Figura 2.

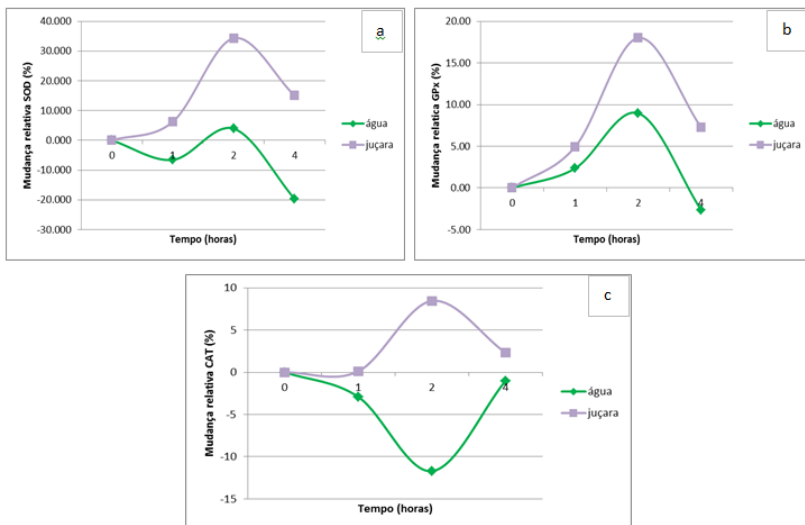


Figura 2: Mudanças relativas nas enzimas SOD (a), GPx (b), e CAT (c). SOD do inglês *Superoxide Dismutase*, superóxido dismutase; GPx do inglês *Glutathione Peroxidase*, glutatona peroxidase; CAT do inglês *Catalase*, catalase.

Após a ingestão do suco de juçara, no tempo de 2h, houve elevação máxima nas atividades de SOD, GPx e CAT, sendo estes de 34,3%, 18% e 8,5% respectivamente. O efeito do consumo de sucos ricos em antocianinas sobre a atividade enzimática de indivíduos saudáveis ainda parece inconclusivo. Estudo que avaliou a ingestão de suco de amora o qual, forneceu 400 mg de cianidina/50 kg de peso corporal, por 6 mulheres saudáveis, com dosagens sanguíneas antes e após 0,5, 1, 2, e 4h de ingestão, não denotaram mudanças nas atividades da GPx e CAT. Após o consumo do suco de amoras diluído em água, não houve correlação entre atividade antioxidante e cianidina ($r = -0,09$). Por outro lado, ocorreu elevada correlação entre atividade antioxidante e ácido úrico ($r = -0,79$) e concentrações de ácido ascórbico ($r = 0,93$), evidenciando efeito antioxidante ao aumento das concentrações de ácido ascórbico e não pela presença dos polifenóis presentes nas amoras²⁷.

Após a administração de 750 ml/dia de suco de cranberry (oxicoco) e placebo a base de água com flavorizante sabor morango e sacarose, em 20 mulheres saudáveis, por duas semanas, as atividades antioxidantes de SOD, CAT e GPx foram similares para os dois grupos,

suco de cranberry e placebo ³⁹. Já Yuan e colaboradores ⁴⁰, após intervenção de duas semanas com dieta rica em sucos de frutas e vegetais em 24 indivíduos saudáveis detectaram aumento na atividade enzimática de GPx e CAT em todos os participantes comparados ao tempo basal, embora não tenha sido observada influência sobre a atividade de SOD.

De acordo com a figura 2, nas mudanças relativas das atividades enzimáticas de SOD e GPx, percebe-se sutil aumento após a ingestão do tratamento controle. Pequenas variações, porém não significativas, após o consumo de água sugere efeito fisiológico no organismo, além disso, estas modificações podem ser um reflexo de variações diurnas que ocorrem nos parâmetros séricos medidos ⁴¹.

A falta de resultados conclusivos para alguns parâmetros pode estar relacionada à alta variabilidade intra e inter indivíduos, por isso considera-se interessante que o efeito do suco de juçara fosse testado em estudo com número maior de participantes ou em indivíduos mais susceptíveis ao estresse oxidativo devido ao pequeno número de voluntários relativamente jovens e saudáveis.

Estudos que avaliaram a atividade antioxidante de forma aguda, utilizando sucos ricos em antocianinas, porém que empregaram metodologias que diferem das propostas neste trabalho encontraram resultados positivos, como Jensen e colaboradores ⁴, que utilizando suco rico em antioxidantes, sendo o açai o principal ingrediente deste, e placebo em forma de capsulas a partir de flocos de batatas, evidenciaram aumento da atividade antioxidante sérica comparado ao grupo placebo quanto à proteção antioxidante celular eritrocitária.

O estudo de Mazza e colaboradores ²⁸, utilizou refeição rica em gorduras com 100 g de mirtilo liofilizado contendo 1,2 g de antocianinas totais ou suplemento controle a base de carboidratos digeríveis, contendo 76,4 g de glicose. As variáveis dependentes para atividade antioxidante foram *ORAC* e *TEAC* (*Trolox equivalent antioxidant capacity*). Houve uma correlação positiva significativa entre as antocianinas séricas e o estado antioxidante pós-prandial, sugerindo que os compostos do mirtilo responsáveis pelo aumento da atividade antioxidante são provavelmente as antocianinas. Já em estudo que procurou avaliar o efeito do consumo agudo de 300 g de mirtilo, em 10 homens jovens, denotou redução significativa no dano ao DNA induzido por H₂O₂, após 1h de ingestão, quando comparado ao grupo controle ⁴².

O efeito das antocianinas sobre a habilidade para modificar biomarcadores relacionados ao estresse oxidativo especialmente em humanos, é controversa ³⁹. De acordo com alguns autores, antocianinas

possuem uma baixa biodisponibilidade^{28, 43, 44, 45, 46}. A absorção de antocianinas e outros flavonóides em humanos são afetados pela estrutura química destes compostos, bem como outros fatores incluindo interações químicas com outros alimentos e componentes intestinais, além das características da composição das fontes de antocianinas/flavonoides²⁸.

Muitos flavonoides são metabolizados *in vivo*, afetando assim suas propriedades antioxidantes. Após extensiva revisão Lotito e Frei⁴⁷ concluíram que o efeito agudo na atividade antioxidante total após o consumo de alimentos ricos em flavonoides, pode ser explicado pelas mudanças na concentração do metabólito antioxidante do ácido úrico.

Apesar das fortes evidências da atividade antioxidante dos flavonoides *in vitro*, sua eficácia *in vivo* é limitada^{47, 48}. A meia-vida dos flavonoides no plasma humano é curta, sendo a concentração máxima normalmente ocorre entre 1 e 3h após o consumo dos alimentos ricos em flavonoides, com o valor menor que 0,15 μM para antocianidinas. Além disso, a biotransformação ocorrida com os flavonoides na mucosa intestinal afeta as propriedades físicas dos flavonoides, tornando-os mais solúveis em água e também com frequência afetando sua atividade antioxidante. Em geral, os metabólitos dos flavonoides são antioxidantes menos potentes devido à modificação em seu grupo fenol^{49,50}. Além disso, os flavonoides podem ser degradados por bactérias intestinais⁴⁷.

Em conclusão, o suco de juçara, após 1h de ingestão, exerceu aumento do potencial antioxidante férrico excedendo em 3% o aumento evidenciado pelo ácido úrico, sugerindo que componentes do suco tenham influenciado a capacidade antioxidante sérica. Além disso, houve efeito do tratamento sobre a atividade enzimática de GPx e sobre o potencial antioxidante redutor férrico. Evidenciou-se ainda efeito significativo na interação entre tempo e tipo de tratamento com a diminuição da peroxidação lipídica ao longo do tempo. Desta forma, estudos que investiguem as propriedades antioxidantes do fruto juçara no organismo humano bem como a biodisponibilidade de seus flavonoides são necessários.

REFERENCIAS

- (1) Crowe, F.L.; Roddam, A. W.; Key, T. J. et al. Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. *Eur Heart J*, **2011**, 32, 1235-1243, 2011.
- (2) Duijnhoven, F. J. B.; Bueno-de-Mesquita, H. B.; Ferrari, P. et al. Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr*, **2009**, 89, 1441-1452.
- (3) Manach, C.; Mazur, A.; Scalbert, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol*, **2005**, 16, 77-84, 2005.
- (4) Jensen, G.S.; Wu, X.; Patterson, K. M.; Barnes, J.; Carter, S.G.; Scherwitz, L.; Beaman, R.; Endres, J.R.; Schauss, A. G. . In Vitro and in Vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, 56, 8326-8333.
- (5) Mertens-Talcott, S.U.M. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich açai juice and pulp (*Euterpe oleraceae* Mart.) in human healthy volunteers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, 56, 7796-7802.
- (6) Schauss, A.; Wu, X.; Prior, R.; Ou, B.; Patel, D.; Huang, D.; et al. Antioxidant capacity and other bioactivities of freeze-dried Amazonian Palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Açaí). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2006**, 54, 8604-8610.
- (7) Kang, J.; Thakali, K. M.; Xie, C.; Kondo, M.; Tong, Y.; Ou, B.; et al. Bioactives of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chemistry*, 2012, 3, 671-677.

- (8) Iaderoza, M.; Baldini, V.L.S.; Draetta, S. E.; Bovi, M. L. A. Anthocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea*, Mart) and juçara (*Euterpe edulis* Mart). *Tropical Science*, **1992**, 32, 41-46.
- (9) Pacheco-Palencia, L. A.; Duncan, C. E.; Talcott, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry*, **2008**, 115, 1199-1205.
- (10) Lima, C. P.; Cunico, M. M.; Miyazaki, C. M. S.; Miguel, O. G.; Côcco, L. C.; Yamamoto, C. I.; Miguel, M. D. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). *Rev. Bras. Pl. Med.*, **2012**, 14, 2, 321-326.
- (11) Borges, G. S. C.; Gonzaga, L. V.; Jardini, F. A.; Filho, J. M.; Heller, M.; Micke, G.; Costa, A. C. O.; Fett, R. Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, **2013**, 51, 363-369.
- (12) Felzenszwalb, I.; Marques, M. R. C.; Mazzei, J. L.; Aiub, C. A. F. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. *Food and Chemical Toxicology*, **2013**, 58, 536-544.
- (13) Hou, D. X.; Fujii, M.; Terahara, N.; Yoshimoto, M. Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins. *J Biomed Biotechnol*, **2004**, 321-325.
- (14) Motohashi, N.; Sakagami, H. Anthocyanins as Functional Food Colors. In: *Linguistics*. H. de Hoop, P. de Swart (eds), *Bioactive Heterocycles VII*, pp 1. **2009**.
- (15) Halliwell, B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition*, v. , **1996a**, 16, 33-50.
- (16) Stohs, S. J. The role free radicals in toxicity and disease. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, **1996**, 6, 205-28.
- (17) Mccord, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine.*, **2000**, 108, 652-659.

- (18) Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Resolução nº 196, de 10 de Outubro de 1996: aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. **1996**.
- (19) AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis, **2005**, 18a. Washington, DC [s.n],
- (20) Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal Enology Viticulture, **1965**, 16, 144-158.
- (21) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie- LWT, **1995**, 28, 25-30.
- (22) Borges, G. S. C.; Vieira, F. G. K.; Copetti, C.; Gonzaga, L. V.; Fett, R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. Food Research International, **2011**, 44, 708-715.
- (23) Giusti, M. M.; Wrolstad, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy, In: R, E, Wrolstad, Current protocols in food analytical chemistry, New York: John Wiley and Sons, p. 1-13, 2001.
- (24) Maffei, F.; Tarozzi, A.; Carbone, F.; Marchesi, A.; Hrelia, S.; Angeloni, C.; Forti, G. C.; Hrelia, P. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. British Journal of Nutrition, **2007**, 97, 921-927.
- (25) ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on obesity. **2000**, Geneva: WHO.
- (26) Friedewald, W.T.; Levy, R.I.; Fredrickson, D.S. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifugation. Clin. Chem., **1972**, 18, 6, 499-502.

(27) Hassimotto, N. M. A.; Pinto, M. da S.; Lajolo, F. M.. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2008**, 56, 11727–11733

(28) Mazza, G.; Kay, C. D.; Cottrell, T.; Holub B. J.. Absorption of Anthocyanins from Blueberries and Serum Antioxidant Status in Human Subjects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2002**, 50, 7731-7737.

(29) Vieira, F. G. K. ; Di Pietro, P. F. ; Boaventura, B. C. B. ; Ambrosi, C. ; Rockenbach, G. ; Fausto, M. A. ; Crippa, C. G. ; Silva, E. L. . Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. *Nutrición Hospitalaria*, **2011**, 26, 528-536.

(30) Beutler, E.; Duron, O.; Kelly, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. *The journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **1963**, 61, 882-90.

(31) Benzie, I. F.F.; Strain, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **1996**, 239, 70-6.

(32) Jiang, Z. Y.; Hunt, J. J.; Wolff, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Analytical Biochemistry*, **1992**, 202, p. 384-389.

(33) Boveris, A.; Fraga, C.G.; Varsavsky, A.I.; Koch, O.R. *Archives Of Biochemistry and Biophysics*, **1983**, 227, 534-541.

(34) Wendel, A. Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, **1981**, 77, 325-333.

(35) Aebi, H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*. **1984**, 105, 121-126.

(36) Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **1976**, 72, 248-254.

- (37) Jin, Y.; Alimbetov, D.; George, T.; Gordon, M. H.; Lovegrove, J. A. A randomised trial 1 to investigate the effects of acute consumption of a blackcurrant juice drink on markers of vascular reactivity and bioavailability of anthocyanins in human subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2011. DOI : 10.1038/ejcn.2011.55.
- (38) García-Alonso, J.; Rosa, G.; Vidal-Guevarab, M. L.; Periago, J. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Nutrition Research*, **2006**, 26, 330–339.
- (39) Duthie, S. J.; Jenkinson, A. M.; Crozier, A.; Mullen, W.; Pirie, L.; Kyle, J.; Yap, L. S.; Christen, P.; Duthie, G. G. The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. *Eur J Nutr*, **2006**, 45, 113-122.
- (40) Yuan, L.; Zhang, L.; Ma, W.; Zhou, X.; Ji, J. B.; Li, N. Xiao, R. Glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms with consumption of high fruit-juice and vegetable diet affect antioxidant capacity in healthy adults. *Nutrition*, **2013**, p.1-7.
- (41) Lotito, S. B.; Frei B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. *Free Radical Biology & Medicine*, **2004**, 36, 201-211.
- (42) Del Bo', C.; Riso, P.; Campolo, J.; Moller, P.; Loft, S.; Klimis-Zacas, D.; Brambilla, A.; Rizzolo, A.; Porrini, M. A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutrition Research*, **2013**, 33, 220-227.
- (43) Matsumoto, H.; Inaba, H.; Kishi, M.; Tominaga, S.; Hirayama, M.; Tsuda, T. Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. *J. Agric. Food Chem*, **2001**, 49, 1546-1551.
- (44) Kay, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. *Nutr Res Rev*, **2006**, 19, 137-146.

(45) Hollands, W.; Brett, G. M.; Radreau, P.; Saha, S.; Teucher, B.; Bennett, R. N. et al. Processing blackcurrants dramatically reduces the content and does not enhance the urinary yield of anthocyanins in human subjects. *Food Chemistry*, **2008**, 108, 869-878.

(46) Wiczowski, W.; Romaszko, E.; Piskula, M. K. Bioavailability of Cyanidin Glycosides from Natural Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Juice with Dietary-Relevant Dose of Anthocyanins in Humans. *J. Agric. Food Chem*, **2010**, 58, 12130-12136.

(47) Lotito, S. B.; Frei, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radical Biology & Medicine*, **2006**, 41, 1727-1746.

(48) Halliwell, B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol*, **2012**, 73, 3, 637-644.

(49) Natsume, M.; Osakabe, N.; Yasuda, A.; Baba, S.; Tokunaga, T.; Kondo, K.; Osawa, T.; Terao, J. In vitro antioxidative activity of epicatechin glucuronide metabolites present in human and rat plasma. *Free Radic. Res*, **2004**, 38, 1341-1348.

(50) Janisch, K. M.; Williamson, G.; Needs, P.; Plumb, G. W. Properties of quercetin conjugates: modulation of LDL oxidation and binding to human serum albumin. *Free Radic. Res*, **2004**, 38, 877-884, 2004.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O interesse no fruto juçara é emergente devido seu teor de antioxidantes e vista a contribuição para a sustentabilidade da Mata Atlântica. Desta forma, considera-se relevante a exploração, popularização e promoção deste fruto.

Na investigação proposta, a ingestão única do suco de juçara exerceu aumento do potencial antioxidante férrico excedente em 3% comparado ao aumento evidenciado pelo ácido úrico, sugerindo que componentes do suco tenham influenciado a capacidade antioxidante sérica. Além disso, houve efeito do tratamento sobre a atividade enzimática de GPx e sobre o potencial antioxidante redutor férrico. Evidenciou-se ainda efeito significativo na interação entre tempo e tipo de tratamento com a diminuição da peroxidação lipídica ao longo do tempo.

Estes resultados possibilitam e incentivam a implementação de estratégias, mediante a promoção do consumo regular de frutas ricas em antioxidantes, que promovam um aumento da capacidade antioxidante, com consequente proteção contra doenças crônicas não transmissíveis. Além disso, estima-se a valorização do fruto juçara, considerando que não foram encontrados estudos em humanos até o presente momento e seu potencial antioxidante.

Cabe ressaltar que novas pesquisas, acerca do efeito antioxidante do suco de juçara com número maior de participantes ou em indivíduos mais susceptíveis ao estresse oxidativo, em determinadas doenças crônicas não transmissíveis, devem ser incentivadas. Além disso, ponderando seus possíveis promissores benefícios à saúde, pesquisas acerca da biodisponibilidade de seus compostos biativos também devem ser encorajadas.

Considera-se ainda a importância da exploração destes frutos para a sustentabilidade ambiental da Mata Atlântica, viabilizando fonte de renda aos agricultores, tendo em vista sua relevância e incremento nutricional à saúde humana.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**. v. 105, p. 121-126, 1984

AGUDO, A.; CABRERA, L.; AMIANO, P.; ARDANAZ, E.; BARRICARTE, A.; BERENGUER, T.; et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in spanish adults: findings from the spanish cohort of the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC-Spain). **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 1634-42, 2007.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência Tecnologia Alimentos**. Campinas, v. 24, n. 1, 2004.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis**, 18a. Washington, DC [s.n], 2005.

ASAMI, D. K.; HONG, Y.J.; BARRETT, D.M.; MITCHELL, A.E. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional organic, and sustainable agricultural practices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1237–1241, 2003.

BABIOR, B. M.; Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, p.141-155, 1997.

BACELLAR, A. A.; SOUZA, R. C. R.; XAVIER, D. J. C.; SEYE, O.; SANTOS, E.C.S.; FREITAS, K.T. Geração de renda na cadeia produtiva do açaí em projeto de abastecimento de energia elétrica em comunidades isoladas no município de Manacapuru-AM. CDEAM - Centro de Desenvolvimento Energético Amazônico- 2006. Disponível em: <http://cdeam.ufam.edu.br/artigos/103.pdf>. Acesso em 22 de maio de 2012.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BECKMAN, J. S. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. **Chemical Research Toxicology**, v. 9, p. 836-844, 1996.

BENVENUTI, S.; PELLATI, F.; MELEGARI, M.; BERTELLI, D. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. **Journal of Food Science**. [S.l.], v. 69, p.164–169, 2004.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239(1), p. 70-6, 1996.

BERGER, P.; LEITNER, N. K. V.; DORÉ, M.; LEGUBE, B.; Ozone and hydroxyl radicals induced oxidation of glycine. **Water Research**. v. 33, p. 433-441, 1999.

BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **The journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 61, p. 882-90, 1963.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 123-130, 1999.

BORGES, G. da S. C. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante in vitro de frutos de jussara (euterpe edulis)**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V.; JARDINI, F. A.; FILHO, J. M.; HELLER, M.; MICKE, G.; COSTA, A. C. O.; FETT, R. Protective effect of Euterpe edulis M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, p. 363-369, 2013.

BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of Euterpe edulis using the response surface methodology. **Food Research International**, v. 44, p. 708-715, 2011.

BOVERIS, A.; FRAGA, C. G.; VARSAVSKY, A. I.; Koch, O.R. **Archives Of Biochemistry and Biophysics**, v. 227, p. 534-541, 1983.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie- LWT**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério Da Agricultura e Do Abastecimento. Instrução Normativa nº01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí**, 2000. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/portarias/2798.htm>. Acesso em: 21 de fevereiro de 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Resolução nº 196, de 10 de Outubro de 1996: aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. 1996.

CALLEGARI, P. **Extração da polpa de açaí a partir dos frutos do palmitero (*Euterpe edulis Martius*) na Mata Atlântica**. 2003. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CHELIKANI, P.; FITA, I.; LOEWEN, P. C. Diversity of structures and properties among catalases. **Cell. Mol. Life Sci**, v. 61, n. 2, p. 192-208, 2004.

CIEŚLIK, E.; GREĐA, A.; ADAMUS, W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. **Food Chemistry**, v. 94, p. 135–142, 2006.

CIRICO, T. L.; OMAJE, S. T. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 44, p. 510–516, 2006.

CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; HANCOCK, J. F.; BERKHEIMER, S.; HANSON, E. J. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 893–898, 2002.

COSTA, E. A. D., da.; CORBELLINI, L. M.; REIS, C. S.; SANTOS, A. S. dos; CHERAULTI, V. J.; SILVA, M. B. M. Produção de polpa e sementes dos frutos de *Euterpe edulis*: uma alternativa de geração de renda e uso sustentável da mata atlântica. **O Biológico** 68, suplemento v. 2, p. 13-16, 2006.

COSTA, E. A. D., da.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. R.; CORBELLINI, L.M. Produção de polpa e sementes de palmeira juçara: alternativa de renda para a mata atlântica. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, p. 60-66, 2008.

CROWE, F. L.; RODDAM, A. W.; KEY, T. J. et al. Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. **Eur Heart J**, v. 32, p. 1235-1243, 2011.

DAUCHET, L.; AMOUYEL, P.; DALLONGEVILLE, J. Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. **Neurology**, v. 65, p. 1193-7, 2005.

DE GROOT, H. Reactive oxygen species in tissue injury. **Hepato-Gastroenterology**, v. 41, p. 328-332, 1994.

DEL BO', C.; RISO, P.; CAMPOLO, J.; MOLLER, P.; LOFT, S.; KLIMIS-ZACAS, D.; BRAMBILLA, A.; RIZZOLO, A.; PORRINI, M. A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. **Nutrition Research**, v. 33, p. 220-227, 2013.

DEL POZO-INSFRAN, D.; TALCOTT, S.; BRENES, C. H. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1539-1545, 2004.

DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. **JAPI**, v. 52, p.794-804, 2004.

DIETRICH, H.; RECHNER, A.; PATZ, C.D. Bioactive compounds in fruit and juice. **Fruit Processing**, v. 1, p. 50-55, 2004.

DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Progress in Lipid Research**, v. 43, p. 200-227, 2004.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev.** v. 82, p. 47-95, 2002.

DUIJNHOFEN, F. J. B.; BUENO-DE-MESQUITA, H. B.; FERRARI, P. et al. Fruit, vegetables, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **Am J Clin Nutr**, v. 89, p. 1441-1452, 2009.

DUTHIE, G. G.; GARDNER, P. T.; KYLE, J. A. Plant polyphenols: Are they the new magic bullet? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p. 599-603, 2003.

DUTHIE, S. J.; JENKINSON, A. M.; CROZIER, A.; MULLEN, W.; PIRIE, L.; KYLE, J.; YAP, L. S.; CHRISTEN, P.; DUTHIE, G. G. The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. **Eur J Nutr**, v.45, p. 113-122, 2006.

EMBRAPA – CNPF. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado de Santa Catarina**. Curitiba, 1998.

EPAGRI, Zoneamento agroecológico e socioeconômico do Estado de Santa Catarina. 1998. Disponível em:
<<http://www.epagri.rctsc.br/zoneamentoagroambiental>>. Acesso em: 18 fevereiro 2012.

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, GUOYAO. Free radicals, antioxidants, and nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872-879, 2002.

FELZENSZWALB, I.; MARQUES, M. R. C.; MAZZEI, J. L.; AIUB, C. A. F. Toxicological evaluation of Euterpe edulis: A potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 536-544, 2013.

FOOTE, C. S.; VALENTINE, J. S.; GREENBERG, A.; LIEBMAN, J. F. editors Active Oxygen in Chemistry. **Chapman and Hall**, New York, 1985.

FRIDOVICH, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 893, p. 13-18, 1999.

GARAVELLO, W.; ROSSI, M.; MCLAUGHLIN, J. K.; BOSETTI, C.; NEGRI, E.; LAGIOU, P.; TALAMINI, R.; FRANCESCHI, S.; PARPINEL, M.; DAL MASO, L.; LA VECCHIA, C. Flavonoids and laryngeal cancer risk in Italy. **Annals of Oncology**, v. 18, p. 1104-9, 2007.

GARCÍA-ALONSOA, J.; ROSA, G.; VIDAL-GUEVARAB, M. L.; PERIAGO, J. Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. **Nutrition Research**, v. 26, p. 330–339, 2006.

GEMS, D.; DOONAN, R. Antioxidant defense and aging in *C.elegans*: is the oxidative damage theory of aging wrong? **Cell Cycle**, v. 8, p. 1681–1687, 2009.

GERHAUSER, C. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. **Planta Medica**, v. 74, p. 1608-1624, 2008.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy, In: R, E, Wrolstald, Current protocols in food analytical chemistry, New York: John Wiley and Sons, p. 1-13, 2001.

GUIMARÃES, L. A. C. O açaí já “parou” o carioca?: Estudo qualitativo do consumo da polpa de açaí na cidade do Rio de Janeiro, **Novos Cadernos**, v.1, n.2, abr., 1999.

HAKALA, M.; LAPVETELAINEN, A.; HUOPALAHTI, R.; KALLIO, H.; TAHVONEN, R. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. **Journal Food Compost Anal**, v. 16, p. 67–80, 2003.

HAKKINEN, S. H.; TORRONEN, A. R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Research International**, v. 33, p. 517–24, 2000.

HALLFRISCH, J. Metabolic effects of dietary fructose. **FASEB J.**, v. 4, p. 2652-60, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996a.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants – quo vadis? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 32, p.125-130, 2011.

HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radic. Res.**, v. 25, p. 57-74, 1996b.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312–322,2006.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? **Br J Clin Pharmacol**, v. 73, n. 3, p. 637-644, 2012.

HALLIWELL, B. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? **Free Radical Research**, v. 33, p. 819–830, 2000.

HALLIWELL, B., CLEMENT, M. V., LONG, L.H. Hydrogen peroxide in the human body. **FEBS Letters** v.486, p. 10-13, 2000.

HALLIWELL, B.; CROSS, C.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 119, p. 598-620, 1992.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radical in biology and medicine. 3 ed. **Oxford: Oxford University Press**, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 4 th, **Oxford University Press**, 2007.

HASSIMOTTO, N. M. A.; PINTO, M. da S.; LAJOLO, F. M .
Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus*

- fruticosus L.) juices with and without defatted milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 11727-11733, 2008.
- HEBER, D. Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases. **Journal Postgraduate Medicine.**, v. 50, p. 145-149, 2004.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572-584, 2002.
- HENDERSON, A. O gênero Euterpe no Brazil, In: M. S. Reis, & A. Reis. *Euterpe edulis Martius – (Palmitheiro) biologia, conservação e manejo*, p. 1-22, Itajaí: Herbário, 2000.
- HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Seminars in Hematology**, v. 26, p. 277-285, 1989.
- HOLLANDS, W.; BRETT, G. M.; RADREAU, P.; SAHA, S.; TEUCHER, B.; BENNETT, R. N. et al. Processing blackcurrants dramatically reduces the content and does not enhance the urinary yield of anthocyanins in human subjects. **Food Chemistry**, v. 108, p. 869-878, 2008.
- HOU, D. X.; FUJII, M.; TERAHARA, N.; YOSHIMOTO, M. Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins. **J Biomed Biotechnol**, p.321-325, 2004.
- HUANG, J. P.; ZHANG, M.; HOLMAN, C. D.; XIE, X. Dietary carotenoids and risk of breast cancer in chinese women. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 16, p. 437-42, 2007.
- HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of Flavonoids. **Phytochemistry**. v. 26, p. 2489-2491, 1987.
- IADEROZA, M.; BALDINI, V. L. S.; DRAETTA, S. E.; BOVI, M. L. A. Anthocyanins from fruits of açai (Euterpe oleracea, Mart) and juçara (Euterpe edulis Mart). **Tropical Science**, v. 32, p. 41-46, 1992.

IMLAY, J. A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. **Annual Review of Biochemistry**, v. 77, p. 755–776, 2008.

JACKSON, M. J. An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 58, p. 1001-1006, 1999.

JAIN, P.; PAREEK, A.; RATAN, Y.; SHARMA, S.; PALIWAL, S. Free Radicals and Dietary Antioxidants: A Potential Review. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res**, v.13, n. 7, p. 34-48, 2013.

JANG, Y. C.; REMMEN, V.H. The mitochondrial theory of aging: insight from transgenic and knockout mouse models. **Experimental Gerontology**, v. 44, p. 256–260, 2009.

JANISCH, K. M.; WILLIAMSON, G.; NEEDS, P.; PLUMB, G. W. Properties of quercetin conjugates: modulation of LDL oxidation and binding to human serum albumin. **Free Radic. Res**, v. 38, p. 877-884, 2004.

JENSEN, G. S.; WU, X.; PATTERSON, K. M.; BARNES, J.; CARTER, S. G.; SCHERWITZ, L.; BEAMAN, R.; ENDRES, J. R.; SCHAUSS, A. G. . In Vitro and in Vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8326–8333, 2008.

JIANG, Z. Y.; HUNT, J. J.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Analytical Biochemistry**, v. 202, p. 384-389, 1992.

JIN, Y.; ALIMBETOV, D.; GEORGE, T.; GORDON, M. H.; LOVEGROVE, J. A. A randomised trial 1 to investigate the effects of acute consumption of a blackcurrant juice drink on markers of vascular reactivity and bioavailability of anthocyanins in human subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, 2011. DOI : 10.1038/ejcn.2011.55.

- JURANIC, Z.; ZIZAK, Z.. Biological activities of berries: From antioxidant capacity to anti-cancer effects. **Biofactors**, v. 23, p. 207–211, 2005.
- KÄHKÖNEN, M. P.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 628-633, 2003.
- KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; et al. Bioactives of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 3, p. 671-677, 2012.
- KAY, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. **Nutr Res Rev**, v. 19, p. 137-146, 2006.
- KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; Chia, T. F.; Brouillard, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923 –933, 2003.
- LANDER, H. M. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. **FASEB Journal.**, v. 11, p. 118-124, 1997.
- LIMA, C. P.; CUNICO, M. M.; MIYAZAKI, C. M. S.; MIGUEL, O. G.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; MIGUEL, M. D. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 14, n. 2, p.321-326, 2012.
- LORENZI, H. et.al. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*). São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2006.
- LOTITO, S. B.; FREI B. Relevance of apple polyphenols as antioxidants in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 36, p. 201-211, 2004.
- LOTITO, S. B.; FREI, B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 41, p. 1727-1746, 2006

MAC FADDEN, J. **A produção de açaí a partir do processamento dos frutos do palmito (Euterpe edulis Martius) na Mata Atlântica.** 2005. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

MAFFEI, F.; TAROZZI, A.; CARBONE, F.; MARCHESI, A.; HRELIA, S.; ANGELONI, C.; FORTI, G. C.; HRELIA, P. Relevance of apple consumption for protection against oxidative damage induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 921–927, 2007.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. **Curr. Opin. Lipidol**, v. 16, p. 77-84, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; Remesy, C.; Jimenez, L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79(5), p. 727–747, 2004.

MARTINS-CORDER, M. P. et al. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de diferentes progênies de Euterpe edulis Martius. **Revista Árvore**, v.30, n.5, p. 693- 699, 2006.

MATSUMOTO, H.; INABA, H.; KISHI, M.; TOMINAGA, S.; HIRAYAMA, M.; TSUDA, T. Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. **J. Agric. Food Chem**, v. 49, p. 1546-1551, 2001.

MAZZA, G.; KAY, C. D.; COTTRELL, T.; HOLUB B. J.. Absorption of Anthocyanins from Blueberries and Serum Antioxidant Status in Human Subjects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 7731-7737, 2002.

MCCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **American Journal of Medicine.**, v. 108, p. 652-659, 2000.

MENEZES, E. M. da S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (Euterpe oleracea Martius) liofilizada. **Acta Amazonica**, v.38, n.2, p. 311-316, 2008.

MERTENS-TALCOTT, S. U. M.; RIOS, J.; JILMA-STOHLAWETZ, P.; PACHECO-PALENCIA, L. A.; MEIHOHM, B.; TALCOTT, S. T.; DERENDORF, H. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich açai juice and pulp (*Euterpe oleraceae* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 7796-7802, 2008.

MIRMIRAN, P.; NOORI, N.; ZAVAREH, M. B.; AZIZI, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. **Metabolism**, v. 58, p. 460-8, 2009.

MOTOHASHI, N.; SAKAGAMI, H. Anthocyanins as Functional Food Colors. In: Linguistics. H. de Hoop, P. de Swart (eds), *Bioactive Heterocycles VII*, pp 1. 2009.

MUSHTAQ, M.; WANI, S. M. Polyphenols and human health- a review. **Int J Pharm Bio Sci**, v. 4, n. 2, p. 338-360, 2013.

NASCIMENTO, R. J. S. do; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açai extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p. 498-502, 2008.

NATSUME, M.; OSAKABE, N.; YASUDA, A.; BABA, S.; TOKUNAGA, T.; KONDO, K.; OSAWA, T.; TERAOKA, J. In vitro antioxidative activity of epicatechin glucuronide metabolites present in human and rat plasma. **Free Radic. Res**, v. 38, p. 1341-1348, 2004.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. Açai (*Euterpe oleracea* Martius). **Série Frutas Nativas, Jaboticabal: Funep**, v. 7, p. 52, 2000.

OLIVEIRA, M. do S. P.; FARIAS NETO, J. T.; SILVA, P. R. Açai: Técnicas de Cultivo e Processamento. **Frutal Amazônia** 2007, Belém/PA, 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on obesity. Geneva: WHO; 2000.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Food Chemistry**, v.115, p. 1199-1205, 2008.

PEREZ, V.I., BOKOV, A., VAN REMMEN, H., MELE, J., RAN, Q., IKENO, Y., RICHARDSON, A. Is the oxidative stress theory of aging dead? **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1790, 1005–1014, 2009.

POLJSAK, B.; SUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, ID 956792, 11p., 2013.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos Benéficos do Açai. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 15-20, jan./abr, 2012.

PRIOR, R. L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage, **American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p. 570S–578S, 2003.

PUUPPONEN-PIMIA, R.; NOHYNEK, L.; ALAKOMI, H-L.; OKSMAN-CALDENTY, K-M. Bioactive berry compounds - novel tools against human pathogens. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 67, p. 8-18, 2005.

QUEIROZ, M.; CUNHA, S. C.; ROGEZ, H. Impacto da pasteurização no suco de açai (*Euterpe Oleracea* Mart.) sobre a atividade da peroxidase. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE QUÍMICA, 1998, São Luís — MA. **Resumo QA 99**, p.171–172 - 1998

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira de Santa Catarina. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p. 320, 1978.

ROGEZ, H. Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Belém: EDUFPA, 2000.

SANABRIA, N.; SANGRONIS, E. Caracterización Del açai o manacá (*Euterpe oleracea* Mart): um fruto del Amazonas. **Archivos Latino Americanos**, v. 57, p. 94-99, 2007.

SATUÉ-GRACIA, M. T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E. N. Anthocyanins as Antioxidant on Human Low Density Lipoprotein and Lecithin-Liposome Systems. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3362-3367, 1997.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHAUSS, A.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWARL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8598-8603, 2006.

SCHAUSS, A.; WU, X.; PRIOR, R.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; et al. Antioxidant capacity and other bioactivities of freeze-dried Amazonian Palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8604-8610, 2006.

SCHIRMANN, G. S. **Composição em ácidos graxos do açai (*Euterpe edulis*) de diversas regiões de Santa Catarina**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açai de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius e influência de diferentes métodos de pasteurização sobre o açai de *Euterpe edulis***. 2008. Trabalho de Conclusão (Curso de Agronomia), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SHAHIDI F.; NACZK, M. Phenolic compounds in fruits and vegetables. In: Phenolics in food and nutraceutical, CRC LLC, p. 131–156, 2004.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angewandte Chemie International Edition**. Engl., v. 25, p. 1058-71, 1986.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, p. 213-19, 1993.

SILVA, J. L. V. F. **Análise econômica da produção e transformação em ARPP, dos frutos de Euterpe edulis Mart. em açaí no município de Garuva, Estado de Santa Catarina**. 2005. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

SILVA, M. G. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. **Comparação nutricional da polpa dos frutos de juçara e de açaí**. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Florianópolis, Santa Catarina, 22 a 26 de novembro de 2004. Anais. CD ROOM, Florianópolis, SC, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SKUPIEŃ, K.; OSZMIAŃSKI, J. Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 66–70, 2004.

SOUSA, C. L.; MELO, G. M. C.; ALMEIDA, S. C. S. Avaliação da qualidade do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) comercializado na cidade de Macapá – AP. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.17, n.2, p.127-136, 1999.

STOHS, S. J. The role free radicals in toxicity and disease. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 6, p. 205-28, 1996.

SZAJDEK, A.; BOROWSKA, E. J. Bioactive Compounds and Health-Promoting Properties of Berry Fruits: A Review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 63, p. 147-156, 2008.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies

reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**. v. 30, v. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIEIRA, F. G. K. ; Di PIETRO, P. F. ; BOAVENTURA, B. C. B. ; AMBROSI, C. ; ROCKENBACH, G. ; FAUSTO, M. A. ; CRIPPA, C. G. ; SILVA, E. L. . Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. *Nutrición Hospitalaria*, **2011**, 26, 528-536.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, v.77, p. 325-333, 1981.

WICZKOWSKI, W.; ROMASZKO, E.; PISKULA, M. K. Bioavailability of Cyanidin Glycosides from Natural Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Juice with Dietary-Relevant Dose of Anthocyanins in Humans. **J. Agric. Food Chem**, v. 58, p. 12130-12136, 2010.

WOOTTON-BEARD, P. C.; RYAN, L. Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages, **Food Research International**, 2011

YUAN, L.; ZHANG, L.; ZHOU, X.; JI, J. B.; LI, N. XIAO, R. Glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms with consumption of high fruit-juice and vegetable diet affect antioxidant capacity in healthy adults. **Nutrition**, p.1-7, 2013.

ZAFRA-STONE, S.; YASMIN, T.; BAGCHI, M.; ARCHANA, J. A. Vinson and Debasis Bagchi. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. **Molecular Nutrition & Food Research**., v. 51, p. 675 – 683, 2007.

ZHANG, C. X.; HO, S. C.; CHEN, Y. M.; FU, J. H.; CHENG, S. Z.; LIN, F. Y. Greater vegetable and fruit intake is associated with a lower risk of breast cancer among Chinese women., **International Journal of Cancer**. v. 125, p. 181-8, 2009.

APÊNDICE A - ORIENTAÇÕES FORNECIDAS AOS PARTICIPANTES

ORIENTAÇÕES GERAIS

Orientações gerais quanto à alimentação durante o estudo e quanto aos procedimentos realizados:

- Evitar o consumo, durante as 48 horas precedentes ao início do estudo, de frutas, verduras, sucos de frutas e verduras, oleaginosas (como castanhas e nozes), chás, chá mate, chimarrão, vinho e outras bebidas alcoólicas, chimarrão, café e chocolate (Ver quadro abaixo);
- Dar preferência a alimentos como arroz branco, pão branco, massas, carne, peixes e produtos lácteos (leite, queijos) (Ver quadro abaixo);

Restrições alimentares durante as 48 horas de dieta pobre em antioxidantes.

Alimentos Permitidos	Alimentos não permitidos
Carne bovina, suína, aves, peixes e <u>presunto</u>	Todas as frutas (frescas e desidratadas)
Leites e queijos	Todas as verduras e legumes
Pão branco (não o integral)	Oleaginosas (castanhas e nozes)
Arroz branco (não o integral)	Sucos de frutas ou verduras
Batata	Refrigerantes a base de cola, guaraná e outras bebidas <u>efervescentes</u>
Macarrão sem molho de tomate	Chás, chá mate, chimarrão e <u>café</u>
Manteiga, margarina	Vinhos e outras bebidas alcoólicas
Água	Chocolate e bebidas achocolatadas
	<u>Geléia</u> de frutas e goiabada
	Molho de tomate, <u>catchup</u> , <u>curry</u> , pimenta e outras <u>especiarias</u>
	Todos os cereais matinais (<u>granola</u> , aveia, flocos de milho, <u>etc</u>)
	Arroz e pão integral

- Realizar jejum total nas 8 horas antes do início do estudo;
- No dia do consumo do fruto juçara, açai ou água, dirigir-se ao HU a partir 7:30 horas da manhã (tente ser pontual) para a primeira coleta sanguínea;
- Após esta etapa você consumirá cerca de 400 mL de suco juçara, açai ou água;
- Após 1h, 2h e 4h serão realizadas novas coletas sanguíneas;
- Durante o período entre as coletas sanguíneas você deverá permanecer sem consumir qualquer alimento ou bebida.

Registro alimentar de 2 dias

REGISTRO ALIMENTAR - 2 DIAS

Como fazer: Anotar tudo o que comer e beber durante 2 dias.

Atividades necessárias:

- 1) Marque o horário que recebeu o alimento;
- 2) Marque o tipo de refeição (café da manhã, lanche, almoço, jantar);
- 3) Marque a quantidade que você comeu. Só o que engoliu, o que ficou no prato não deve ser marcado.
 - Frutas, pães, bolachas, doces duros (quantas fatias, pedaços ou unidades);
 - Arroz, macarrão, saladas, legumes, purês, carne picada ou moída, doce mole e outros (quantas colheres de sopa ou escumadeiras);
 - feijão, sopas (quantas colheres de sopa ou conchas)
- 4) Marque o tipo de preparação (frito, cozido, assado ou ensopado);
- 5) Marque qual o pedaço de frango consumido (peito, coxa, asa, sobrecoxa);

6) Marque todo alimento que foi consumido fora do horário das refeições - BELISCOS

ATENÇÃO

Este registro é muito importante para o sucesso do seu atendimento, portanto procure ser o mais sincero e preciso possível.

Dia 1

Horário e Tipo de Refeição	Alimento	Quantidade
Ex: 8h – Café da manhã	Pão branco	2 fatias médias

APENDICE B – QUESTIONÁRIO DE INCLUSÃO*Questionário Clínico*

Questionário Inclusão “**Efeito do consumo agudo do fruto juçara (Euterpe edulis) e do açaí (Euterpe oleracea) na capacidade antioxidante e biomarcadores de danos oxidativos de indivíduos saudáveis**”.

Paciente n°:

1. Nome:
2. Telefone:
3. E-mail:
4. Data de Nascimento:
5. Anos de estudo:
6. Escolaridade:
() Analfabeto () 1º grau incompleto () 1º grau completo
() 2º grau incompleto () 2º grau completo () superior incompleto
() superior completo
7. Cor da pele: () Branco () Pardo () Amarelo () Negro
8. Fuma: Sim () Não () Parou há quanto tempo?
9. Quantos cigarros/dia:
10. Costuma ingerir bebida alcoólica? Sim () Não ()
11. Qual é a mais frequente? Dose:
12. Atividade física regular: Sim () Não ()
13. Qual? Frequência:
14. Utiliza suplementos vitamínicos: Sim () Não () Qual(is):

15. Está utilizando medicamentos: Sim () Não () Qual(is):

Nos últimos 3 meses (90 dias)

16. Patologias: Sim () Não () Qual:

Diabetes, Hipertensão, Colesterol elevado, Triglicérides alterados, Problema respiratório, Doença cardiovascular, Doença hepática, Doença renal, Hipertireoidismo, Hipotireoidismo

17. Processo infeccioso ou inflamatório:

Diagnóstico Nutricional

18. Peso:

19. Altura:

20. IMC:

Diagnóstico nutricional:

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE C – Nota de Imprensa

Fruto juçara: potencial antioxidante, incremento nutricional e ambiental

O consumo único do suco de juçara demonstrou aumento da defesa antioxidante sérica e enzimática em indivíduos saudáveis.

O gênero de palmeiras *Euterpe* origina espécies, dentre as quais, deriva a popularmente conhecida juçara (*Euterpe edulis*), comumente encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o Norte do Rio Grande do Sul. Devido à exploração extrativista de seu palmito, a palmeira juçara encontra-se em risco de extinção, já que a retirada do palmito culmina na morte da planta. Já a coleta do fruto não exige seu corte possibilitando a exploração do mesmo como alternativa de grande potencial ambiental, econômico e nutricional. A produção da emulsão proveniente do fruto juçara possui propriedades sensoriais e nutritivas similares ao açaí, proveniente dos frutos do açazeiro (palmeira chamada cientificamente de *Euterpe oleracea*). Por estas razões é comum, para facilitar a comercialização, denominar açaí para a emulsão advinda dos frutos processados de juçara.

Inúmeros benefícios são relacionados ao consumo de açaí devido ao seu efeito antioxidante, antienvelhecimento, antiinflamatório, entre outros, porém até o presente momento, não foram encontrados estudos referentes à ingestão humana do fruto juçara. No entanto, ressalta-se que os frutos juçara têm chamado a atenção de pesquisadores pelo grande teor de antioxidantes apresentado.

A proteção antioxidante do organismo abrange um sistema que pode ser produzido pelo próprio corpo ou absorvido através da dieta, atuando contra o excesso de espécies reativas, que se caracterizam por substâncias reativas e instáveis capazes de provocarem a oxidação de biomoléculas ocasionando lesões teciduais e outros prejuízos ao organismo. Os principais antioxidantes encontrados nos frutos juçara são as antocianinas, responsáveis por sua coloração escura, pertencentes à família dos flavonoides. Neste contexto, investigações evidenciaram maior quantidade de antocianinas e atividade antioxidante nos frutos juçara em comparação aos frutos do açazeiro.

Assim, objetivando a busca por novas fontes alimentares ricas em antioxidantes, visto o potencial benefício destes alimentos sobre a saúde humana e ponderando o impacto ambiental e econômico do fruto juçara, foi realizada uma pesquisa pela mestrande Alyne Lizane Cardoso, vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob auxílio de bolsa de

Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). O estudo proposto foi orientado pela Professora Patricia Faria Di Pietro, coordenadora do Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO) e avaliou o efeito da ingestão única do suco de juçara sobre biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis.

A partir de dosagens sanguíneas antes e após, 1h, 2h e 4h de ingestão de 450 mL de suco de juçara, em 11 indivíduos saudáveis, evidenciou-se aumento do potencial antioxidante redutor férrico, aumento da atividade enzimática da glutatona peroxidase além ter sido demonstrado efeito de interação, com a diminuição da oxidação lipídica ao longo do tempo, sugerindo efeito protetor quanto aos danos provocados pelas espécies reativas.

Desta forma, considera-se relevante a exploração, popularização e promoção deste fruto. Além da importância da exploração destes frutos para a sustentabilidade ambiental da Mata Atlântica, considera-se que estes resultados possam contribuir para o incentivo à estratégias, mediante a promoção do consumo regular de frutas ricas em antioxidantes, que promovam um aumento da capacidade antioxidante, com consequente proteção contra doenças crônicas não transmissíveis.

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Resolução n. 196 de 10 de outubro de 1996, segundo o Conselho Nacional de Saúde

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo título é “EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E BIOMARCADOR DE DANO OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS”.

O fruto juçara vem sendo reconhecido por ser um alimento rico em antioxidantes, sendo estes compostos importantes para a prevenção de diversas doenças crônicas. Este fruto produz polpa semelhante ao açaí, com quantidade superior de antioxidante em seus frutos, no entanto ainda não se conhece o efeito do seu consumo sobre a atividade antioxidante plasmática humana, até o presente momento.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito do consumo agudo do suco do fruto juçara sobre a capacidade antioxidante e biomarcador de dano oxidativo em indivíduos saudáveis.

As etapas e os procedimentos da pesquisa serão as seguintes:

- 1) verificação do peso e altura corporal; aplicação de 2 registros alimentares nas três etapas de estudo;
- 2) Restrição do consumo de frutas, vegetais, chás, bebidas alcoólicas, café e chocolate 48 horas antes do consumo do açaí ou juçara;
- 3) Jejum de 8 horas antes da 1ª coleta sanguínea;
- 4) Consumo de 450 mL de suco de açaí ou 450 mL de suco de juçara, ou 450 mL de água, dependendo da etapa do estudo;
- 5) Coleta sanguínea, por profissional devidamente treinado, antes e 1, 2 e 4 horas após o consumo do suco do fruto juçara ou água.

Todas estas etapas serão realizadas no Laboratório de Comportamento Alimentar da USFC. Os alunos que aceitarem participar

livremente do estudo receberão, ao final do estudo, orientações sobre alimentação saudável e sobre seu estado nutricional atual. Espera-se a produção de novos conhecimentos científicos, que possibilitem conduzir a implementação de estratégias, mediante incentivo do consumo de frutas ricas em antioxidantes, que promovam uma diminuição do estresse oxidativo, com conseqüente redução do risco e incidência de diversas doenças crônicas não transmissíveis.

O presente estudo não trará nenhum risco para sua integridade física ou moral. Entretanto, poderá ocorrer dor durante a coleta sanguínea. Os materiais para coleta sanguínea serão todos descartáveis.

Garantimos que as informações fornecidas serão utilizadas apenas neste trabalho sem a identificação dos participantes. Sua participação é voluntária, podendo desistir a qualquer momento do estudo, sem qualquer conseqüência para você. Caso tenha alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, pode entrar em contato com a pesquisadora, Alyne Lizane Cardoso, através do telefone (48) 9924-4426 ou email alyne.cardoso@hotmail.com.

Eu, _____, fui esclarecido sobre a pesquisa “EFEITO DO CONSUMO AGUDO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) NOS BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS” e aceito participar livremente da mesma.

Florianópolis, ____ de ____ de 2012.