

Alyne Lizane Cardoso

**FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*): PROPRIEDADES
BIOLÓGICAS E EFEITO DA INGESTÃO AGUDA SOBRE A
BIODISPONIBILIDADE DE ÁCIDOS FENÓLICOS E
BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

Tese submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Título
de Doutor em Nutrição.

Orientadora: Prof^a Patrícia Faria Di
Pietro, Dr^a.

Florianópolis
2018

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

Cardoso, Alyne Lizane
Fruto Juçara (*Euterpe edulis*): Propriedades
Biológicas e Efeito da Ingestão Aguda sobre a
Biodisponibilidade de Ácidos Fenólicos e
Biomarcadores de Estresse Oxidativo em Indivíduos
Saudáveis / Alyne Lizane Cardoso ; orientador,
Patrícia Faria Di Pietro, 2018.
230 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de
Pós-Graduação em Nutrição, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

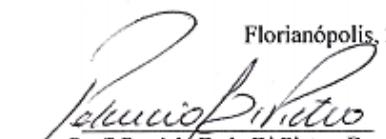
1. Nutrição. 2. *Euterpe edulis*, Juçara, Açaí,
Antioxidantes. I. Faria Di Pietro, Patricia. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Nutrição. III. Título.

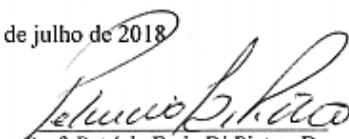
ALYNE LIZANE CARDOSO

**FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*): PROPRIEDADES
BIOLÓGICAS E EFEITO DA INGESTÃO AGUDA SOBRE A
BIODISPONIBILIDADE DE ÁCIDOS FENÓLICOS E
BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

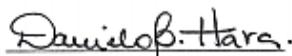
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Nutrição, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

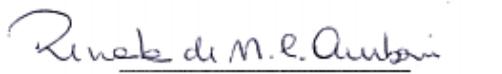
Florianópolis, 27 de julho de 2018


Prof. Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Coordenadora do Curso


Prof. Patrícia Faria Di Pietro, Dra.
Orientador e Presidente da banca
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:


Prof. Daniela Balz Hara, Dra.
Anhangüera


Prof. Renata Dias de Melo Castanho Amboni, Dra.
UFSC

Dedico este trabalho à minha família e marido, por acreditarem em mim e por estarem presentes sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço

Primeiramente a Deus e Santa Catarina de Alexandria, protetora dos estudantes, a qual minha mãe me ensinou a ser devota, por toda serenidade e força nos momentos difíceis.

À minha família, meus pais Carlos e Teresinha, meus maiores exemplos de perseverança, por todo amor incondicional e torcida; aos meus irmãos, Leonardo e Felipe, e cunhadas, Aline e Leslie, pela motivação e amizade; às minhas sobrinhas tão amadas, Lívía, Letícia e Milena, pelos sorrisos e momentos de conforto; e, ao meu marido Guilherme, por todo apoio, compreensão, amor e cuidado comigo ao longo desta caminhada.

À minha orientadora, Patricia Faria Di Pietro, por me incentivar sempre, em todos os momentos, por acreditar em nosso trabalho e me impulsionar a querer ser sempre melhor.

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. Agradeço também aos membros da banca pela atenção e contribuições.

Aos professores Edson Luiz da Silva, Roseane Fett, Gustavo Amadeu Micke e Neuza Hassimotto pelos ensinamentos referentes às técnicas bioquímicas, por cederem seus laboratórios em parceria e tornarem possível a realização das análises. Em especial à Luciane Teixeira, que dividiu com tanta vontade e paciência todo seu conhecimento possibilitando o andamento de parte dos objetivos desta tese.

Às amigas que o doutorado fortaleceu, Raquel e Adriana, obrigada por todos os momentos compartilhados. Ainda, minha gratidão à amiga Sheyla, que dividiu horas de laboratório e muitas ocasiões difíceis e recompensadoras, obrigada por prontamente sempre me ajudar e colaborar com este projeto, serei sempre grata!

Aos meus amigos “da vida”, em especial às de longa data, Carol, Fê e Marihá, por entenderem minha ausência e me apoiarem sempre, obrigada por recarregarem minhas energias sempre que precisei.

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

RESUMO

CARDOSO, Alyne Lizane. **Frutos juçara (*Euterpe edulis*): Propriedades biológicas e efeito da ingestão aguda sobre a biodisponibilidade de ácidos fenólicos e biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis**, 2018; Tese (Doutorado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Santa Catarina.

A palmeira *Euterpe edulis*, conhecida como juçara, produz frutos similares aos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*). Os frutos juçara são ricos em compostos fenólicos, com destaque para as antocianinas. A palmeira juçara pertence à Mata Atlântica e encontra-se atualmente em risco de extinção. Por este motivo, a utilização destes frutos na alimentação torna-se uma alternativa com potenciais benefícios nutricional, econômico e ambiental. O objetivo deste trabalho foi revisar os efeitos biológicos atribuídos aos frutos juçara e avaliar o efeito da ingestão única sobre biomarcadores de estresse oxidativo, absorção e excreção de antocianinas e ácidos fenólicos, em indivíduos saudáveis. Além disso, a presente tese comparou a composição de compostos fenólicos nos sucos de juçara e açaí e seus respectivos efeitos antioxidantes em indivíduos saudáveis. O estudo foi realizado em três etapas. A etapa 1 foi constituída de revisão dos efeitos biológicos relacionados aos frutos juçara e subprotudos nos últimos cinco anos. Os critérios de elegibilidade foram: analisar a composição nutricional e efeitos biológicos *in vitro* e *in vivo*. A etapa 2 avaliou a absorção e excreção dos principais compostos do suco de juçara no plasma e urina de dez indivíduos saudáveis, além do potencial antioxidante sérico e eritrocitário. Amostras de sangue foram coletadas antes e após 0,5; 1; 2 e 4 h o consumo de uma única dose de suco de juçara, enquanto a urina foi coletada na linha de base e intervalos 0-3 e 3-6 h após a ingestão de suco. A etapa 3 refere-se a um ensaio clínico *cross-over* que avaliou a composição de vinte dois compostos fenólicos em amostras comerciais de suco de juçara e açaí, além de avaliar o efeito antioxidante da ingestão única destes sucos na defesa enzimática, capacidade antioxidante total e estado oxidativo total no sangue de onze indivíduos saudáveis. Como resultados, a etapa 1, de revisão, elegeu 25 artigos para estudo. Os frutos juçara demonstraram diversos efeitos biológicos, como atividade antioxidante *in vivo*, melhora dos perfis lipídico e glicêmico, modulação do estado inflamatório e efeito prebiótico em estudos *in vitro* experimentais em animais. A etapa 2 da tese identificou oito ácidos

fenólicos conjugados na urina derivados da degradação das antocianinas, como ácido protocatechuico, ácido vanílico glucuronidado, ácido hipúrico, ácido vanílico, ácido hidroxibenzoico, ácido hidroxifenilacético e outros ácidos fenólicos derivados do suco como kempferol glucuronidade e derivado do ácido ferúlico. A ingestão única do suco também atenuou o estado oxidante total sérico (TOS, do inglês *Total Oxidant Status*) após 0,5h de ingestão, em relação ao valor basal. Na etapa 3, análise intergrupos de variância de medidas repetidas evidenciou interação significativa entre tempo e tratamento para o desfecho TOS, enquanto análises intragrupos evidenciaram que os sucos juçara e açai foram capazes de atenuar TOS após 1 hora ($p < 0,05$ e $p < 0,001$) e após 2 horas ($p < 0,01$ e $p < 0,001$) de ingestão, o que não demonstrado para bebida controle. Conclui-se que a literatura científica demonstra que muitos efeitos biológicos relacionados à potenciais benefícios dos frutos juçara são associados à composição nutricional destes frutos. Porém, se faz necessário padronizar estratégias metodológicas e expandir o conhecimento para ensaios clínicos com seres humanos. No ensaio com consumo único de fruto juçara, constatou-se metabólitos urinários originários das antocianinas, bem como atenuação do estado oxidante total sérico, fornecendo evidências do potencial antioxidante do suco em seres humanos enquanto que no ensaio com o consumo dos sucos de juçara e açai evidenciou-se que houve atenuação similar entre os sucos do estado oxidante total. Ensaios clínicos em indivíduos saudáveis ou portadores de comorbidades, são incentivados, para melhor entendimento da ingestão dos frutos juçara na prevenção ou terapêutica de doenças.

Palavras-chave: *Enterpe edulis*. Juçara. Açai. Antocianinas. Antioxidante. Ácidos fenólicos. Biodisponibilidade.

ABSTRACT

The palm tree *Euterpe edulis* palm, known as juçara, produces spherical fruits similar to those of the *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatória* palm trees, famous by the production of açai. The juçara fruits have been getting recognition in the scientific world for their interesting nutritional composition, which are rich in phenolic compounds, with emphasis on anthocyanins and phenolic acids. For this reason, in recent years, several biological effects have been associated with the juçara fruits. In spite of these associations only one clinical trial was carried out in healthy individuals and no clinical trials evaluating absorption or excretion of the major bioactive compounds of juçara fruits in humans have been identified. Still, the sustainable exploitation of the *Euterpe edulis* fruits has contributed to the preservation of this species in the Atlantic Forest, which is now considered in extinction risk. Juçara fruit has become an option in people's diet with nutritional, economic and environmental benefits. The aim of this thesis was to review the biological effects attributed to juçara fruits and to evaluate the single intake of juçara juice on biomarkers of oxidative stress, anthocyanin and phenolic acid bioavailability in healthy individuals. A secondary objective is to evaluate the composition of phenolic compounds and antioxidant potential of commercial açai and juçara juices. The study was conducted in three stages. Stage one consisted in a review of the biological effects related to the fruit juçara and its by-products (juice, pulp, lyophilized extract or fruit by-products) in the last five years in the electronic databases Medline and Science Direct. The eligibility criteria for the studies were: to analyze the chemical and nutritional composition of *Euterpe edulis* fruits, to evaluate biological effects in vitro and in vivo. Investigations that tested methods of extracting bioactive compounds from fruits, or evaluating other parts of the plant as seeds, were excluded. The second stage of the present thesis occurred by doing a clinical trial that evaluated the absorption and excretion of the main compounds of juçara juice in the plasma and urine in ten healthy individuals in addition to the antioxidant serum and erythrocyte potential. Blood samples were collected before and after and 0.5; 1; 2 and 4 h after a single dose of juçara juice, while urine was collected at the baseline and intervals 0-3 and 3-6 h after juice ingestion. The third stage of the thesis was composed by a clinical trial that evaluated the composition of twenty two phenolic compounds in commercial samples of juçara and açai juice; also evaluated the antioxidant effect of a single intake of these juices in the enzymatic defense, total antioxidant capacity and oxidative state of healthy

individuals. As a result, step one, of review, chose 25 articles for study, among which, the fruits and their by-products seem to have improved the antioxidant activity in vivo, besides presenting benefits related to the lipid and glycemic profiles and modulation of the inflammatory state in experimental studies in animals. Phase 2 of the thesis identified eight phenolic acids conjugated in the urine, derived from the degradation of anthocyanins, such as protocatechuic acid, glucuronidated vanillic acid, hippuric acid, vanillic acid, hydroxybenzoic acid, hydroxyphenylacetic acid and other phenolic acids derived from juice such as kempferol glucuronide and ferulic acid. Single juice intake also attenuated serum total oxidant status after 0.5h of ingestion, relative to baseline. In stage three, analysis of variance of repeated measures showed a significant interaction between time and treatment for the TOS outcome ($p < 0.00$). Intragroup analyzes showed that juçara and açai juices were able to attenuate TOS after 1 hour ($p = 0.05$ and $p = 0.00$) and after 2 hours ($p = 0.01$ and $p = 0.00$) of intake, while there was not reported effect for drink control. These results showed that juçara and açai exerted similar effects on biomarker of oxidative damage. Results of stage 3. The review showed that many biological effects related to potential benefits of juçara fruits are studied especially in experimental models in animals. Although the results seem promising, it is necessary to standardize important strategies such as the intervention used (juice, pulp, or lyophilized powder), besides the time of consumption. Moreover, the evaluation of the absorption and excretion of the bioactive compounds of the juçara fruits showed the extensive and complex metabolism of the anthocyanins, being necessary more studies that approach and deepen this subject. Juçara fruit can be considered a food rich in bioactive compounds and can be an alternative food that will have its identity strengthened, gaining space in nutritional aspects. For this, clinical trials in healthy individuals or carriers of pathologies, are encouraged, to better understand the ingestion of the juçara fruits in preventing or healing diseases.

KEY WORDS: *Enterpe edulis*. Juçara. Acai. Anthocyanins. Antioxidant. Phenolic acids. Bioavailability.

LISTA DE FIGURAS

Figura1A: Palmeira <i>Euterpe edulis</i>	38
Figura 1B: Frutos juçara (<i>Euterpe edulis</i>)	39
Figura 2A: Estrutura química dos flavonoides.....	55
Figura 2B: Estrutura das antocianidinas.....	55
Figura 3: Absorção, distribuição, metabolismo e excreção das antocianinas.....	65
Figura 4 - Metabolização da cianidina-3-O-glicosídeo em ácidos fenólicos	66
Figura 5: Desenho do estudo referente à avaliação da absorção e excreção dos compostos bioativos do suco de juçara, após ingestão única.....	74
Figura 6: Desenho do estudo referente à ingestão única do suco de juçara em comparação ao suco de açaí e bebida controle	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\cdot\text{O}_2$ Radical Superóxido

$\cdot\text{OH}$ Radical Hidroxil

ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic) diammonium salt)

ACN Antocianinas

AIN American Institute of Nutrition

AMT Antocianinas monoméricas totais

AOAC Association of Official Analytical Chemicals

ApoE Apolipoproteína E

CAP-e do inglês *cell-based antioxidant protection in erythrocytes*

CAT Catalase

CAD do inglês *collisionally activated dissociation*

CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CT Colesterol total

DNA Ácido desoxirribonucléico

DPPH radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DRIs *Dietary Reference Intake*

EAG Equivalente ácido gálico

EDTA ácido etileno diaminoacético

ER Espécies reativas

ERN Espécies reativas de nitrogênio

ERO Espécies reativas de oxigênio

ET Equivalente de Trolox

FRAP do inglês Ferric Reducing Antioxidant Potential

FT Fenólicos totais

G6PD glicose-6-fosfato desidrogenase
GA Grupo Açafá
GC Grupo Controle
GI Grupo Intervenção
GJ Grupo Juçara
GPx Glutaciona peroxidase
GR Glutaciona redutase
GSH Glutaciona reduzida
GSSG Glutaciona oxidada
GST glutaciona- S-transferase
H₂O₂ Peróxido de hidrogênio
HDL do inglês *High Density Lipoprotein*
HPLC do inglês *High Performance Liquid Chromatography*
IMC Índice de massa corporal
KCN Cianeto de potássio
LC-ESI-MS/MS do inglês Liquid Chromatography
Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric
LDL do inglês *Low density lipoprotein*
LO• Radical alcóxil
LOO• Radical peróxil
LOOH Hidroperóxido lipídico
LPO Lipoperoxidação
MDA Malondialdeído
NADPH Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NO• Óxido nítrico
O₂ oxigênio molecular

OH· Hidroxil

ONOO⁻ Ânion peroxinitrito

ORAC do inglês *Oxygen radical absorbance capacity*

PMN Polimorfonucleares

RDAs *Recommended Dietary Allowance*

SGLT1 do inglês *Sodium-glucose transport*

SOD Superóxido dismutase

TAC do inglês *total antioxidative capacity*

TBARS do inglês *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*

TCLE Termo de consentimento livre e esclarecido

TG Triglicerídeos

TOS do inglês *Total Oxidative Status*

TPTZ 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina

8-OHdG 8-hydroxydeoxyguanosine

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	27
1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA	27
1.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO.....	30
1.3 OBJETIVOS	32
1.3.1 Objetivo Geral	32
1.3.2 Objetivos Específicos.....	32
1.4 ESTRUTURA GERAL DO DOCUMENTO	33
CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	35
2.1 <i>EUTERPE EDULIS</i> MARTIUS E <i>EUTERPE OLERACEA</i> MARTIUS.....	35
2.1.1 Composição dos frutos de juçara e do açaí	39
2.2 RADICIAIS LIVRES e ESTRESSE OXIDATIVO.....	44
2.3 DEFESA ANTIOXIDANTE.....	47
2.3.1 Frutos juçara e Atividade Antioxidante	49
2.3.2 Antocianinas e Ácidos fenólicos	53
2.3.3 Absorção e biodisponibilidade das antocianinas e ácidos fenólicos	61
CAPÍTULO 3 – MÉTODOS	67
3.1 ETAPAS DA PESQUISA	67
3.2 ETAPA 1: ATUALIZAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO FRUTO JUÇARA (<i>EUTERPE EDULIS</i>).....	67
3.2.1 Revisão não sistemática	67
3.3 ETAPA 2 e 3: ENSAIO CLÍNICOS	68
3.3.1 Caracterização dos sucos de juçara e açaí	68
3.3.2 Preparo das amostras.....	69
3.3.3 Determinação dos fenólicos totais	69
3.3.4 Determinação de antocianinas monoméricas totais	70
3.3.5 Avaliação antioxidante.....	70

3.3.6 Ensaio Clínico.....	72
3.3.7 Análise dos dados	81
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS	82
4.1 MANUSCRITO 1: REVISÃO DE LITERATURA.....	82
4.2 MANUSCRITO 2: ARTIGO ORIGINAL.....	132
4.3 MANUSCRITO 3: ARTIGO ORIGINAL.....	162
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	187
REFERÊNCIAS.....	190
APÊNDICES	216
ANEXOS.....	227

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA E JUSTIFICATIVA

O gênero *Euterpe* origina uma espécie de palmeira conhecida popularmente como palmeira juçara (*Euterpe edulis*), comum na Mata Atlântica, encontrada nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (EMBRAPA, 1998; LORENZI, 2010; Da SILVA et al., 2014; SCHULZ et al., 2016). Devido à exploração extrativista desenfreada de seu palmito, a palmeira juçara atualmente é considerada em risco de extinção. Por este motivo, a utilização dos frutos da palmeira juçara na alimentação humana constitui uma alternativa de grande potencial nutricional, ambiental e econômico (BORGES et al. 2011; Da SILVA et al., 2014; SCHULZ et al., 2016). O mesmo gênero *Euterpe* dá origem às espécies *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, sendo a primeira tipicamente cultivada no Pará e a segunda espécie comum no estado do Amazonas, notórias por conceberem o açaí (YAMAGUCHI et al., 2015).

Há tempos o açaí é extensamente estudado por demonstrar benefícios à saúde, já sendo demonstrados efeito antioxidante, anti-inflamatório e cardioprotetor (JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008; SOUZA et al., 2010; XIE et al., 2011; UDANI et al., 2011; POULOSE et al., 2012; KANG et al., 2012; BARBOSA et al., 2016; PALA et al., 2018), revisados por Yamagushi e colaboradores (2015).

Nos últimos anos, os frutos da palmeira *Euterpe edulis* vêm ganhando espaço no meio científico por apresetarem características similares aos frutos dos açaizeiros (*Euterpe precatória* e *Euterpe oleracea*) porém, com maior concentração de componentes bioativos (SCHULZ et al., 2016).

Intervenções com subprodutos dos frutos juçara (polpa, suco e extrato) demonstraram efeitos biológicos importantes como modulação do estado antioxidante *in vitro* (SCHULZ et al., 2017) e *in vivo* em modelos animais (CARDOSO et al., 2015a), além de ensaio clínico em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015b). Ainda, intervenções com frutos juçara demonstraram efeitos promissores sobre parâmetros como triglicerídeos (CARDOSO et al. 2015b) LDL (do inglês *low-density lipoprotein*) - colesterol (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015), melhora da resposta glicêmica (OYAMA et al. 2016) e efeito prebiótico (GUERGOLETTTO et al., 2016).

Os benefícios à saúde associados à juçara estão relacionados ao seu perfil de polifenóis, principalmente flavonoides (antocianinas) e ácidos fenólicos (SCHULZ et al., 2016; BORGES et al., 2013). Antocianinas exercem sua atividade antioxidante através da doação de elétrons ou átomo de hidrogênio do radical hidroxil às espécies reativas (MOTOHASHI; SAKAGAMI, 2009). Espécies reativas são produtos do metabolismo celular e relacionam-se com processos fisiológicos no organismo (HALLIWELL, 2006; VALKO et al, 2007), no entanto, quando em excesso, são capazes de gerar danos oxidativos em macromoléculas celulares com consequente perda de funções biológicas e desequilíbrio homeostático (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Estudos que avaliaram o efeito antioxidante a partir de intervenções alimentares agudas, utilizando sucos, polpas ou frutos ricos em antocianinas, demonstraram resultados positivos com aumento da atividade antioxidante e diminuição de marcadores relacionados a danos oxidativos, em indivíduos saudáveis (JENSEN et al, 2008; MARTENS-TACOLTT et al, 2008; HASSIMOTO et al, 2008; JIN et al, 2011; DEL BO et al, 2013, CARDOSO et al, 2015; TOALDO et al, 2015).

Previamente, de acordo com nosso conhecimento, nosso Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO) foi o pioneiro em publicar um ensaio clínico avaliando a ingestão do suco de juçara por indivíduos saudáveis, demonstrando interação significativa sobre o marcador de peroxidação lipídica e diminuição deste ao longo de 4 horas de ingestão (CARDOSO et al., 2015a). A partir deste pioneiro estudo, surgiram especulações sobre quais seriam os compostos bioativos presentes nos frutos juçara responsáveis por esta melhora da capacidade antioxidante demonstrada e se antocianinas ou seus metabólitos poderiam ter influenciado tais resultados.

Ressalta-se que para a avaliação da atividade biológica de qualquer composto é necessário compreender seu metabolismo e farmacocinética (TSUDA, 2012; POJER et al, 2013). A biodisponibilidade das antocianinas é considerada muito baixa, com concentrações plasmáticas máximas estimadas em nanomol ou nanograma e excreção urinária inferior a 0,1% da ingestão (TSUDA, 2012; POJER et al., 2013). Além disso, as antocianinas são extensivamente metabolizadas em ácidos fenólicos, os quais também podem estar relacionados a benefícios à saúde (TSUDA, 2012; CARDONA et al., 2013). Esta conversão de antocianinas em ácidos fenólicos pode ocorrer por meio de degradação química pela microbiota intestinal (CZANK et al., 2013; De FERRARS et al., 2014).

Com base no exposto, a presente tese se justifica no crescente número de publicações avaliando efeitos biológicos dos frutos juçara nos últimos anos, demonstrando a importância de compilação destes dados afim de direcionar perspectivas futuras em torno destes frutos e a saúde humana. No entanto, a grande maioria destes estudos *in vivo* foram realizados em modelos experimentais animais e, embora os resultados tenham sido promissores, ainda é necessário padronizar algumas estratégias e expandir os efeitos para ensaios clínicos.

Os potenciais benefícios à saúde dos frutos juçara estão relacionados a sua composição nutricional, ricos em compostos fenólicos em especial antocianinas. No entanto, as antocianinas são reconhecidas por apresentarem biodisponibilidade baixa e ampla metabolização *in vivo*. Por essa razão, considera-se relevante investigar a biodisponibilidade dos principais compostos bioativos presentes nos frutos de juçara e seus metabólitos gerados durante a absorção e excreção, possibilitando a confirmação da sugestão de seus benefícios à saúde, em ensaio clínico com seres humanos. Ainda, considerando a similaridade dos frutos juçara com os frutos do açazeiro, mas ponderando possíveis diferenças na composição de compostos fenólicos, espera-se comparar o efeito antioxidante dos sucos açai, juçara e bebida controle em indivíduos saudáveis.

Entende-se que fontes alimentares e seus compostos bioativos podem se relacionar com a manutenção da saúde humana. O estudo justifica-se pela importância da promoção e valorização de novas fontes alimentares ricas em antioxidantes e que demonstrem efeitos positivos sobre biomarcadores de estresse oxidativo, vista a importância destes desfechos na etiologia de doenças crônicas não transmissíveis e ainda pela popularização do fruto juçara, valorizando seu impacto ambiental e econômico, impulsionando possivelmente a expansão de sua produção e consumo no país.

1.2 RELEVÂNCIA, ORIGINALIDADE E CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO

Estudos demonstram que o consumo regular de frutas pode promover efeito protetor ao organismo por prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Isto ocorre especialmente pela presença de compostos antioxidantes nas frutas, com destaque para os polifenóis (CROWE et al., 2011; SPENCER; CROZIER, 2012; DEL RIO et al., 2013).

Frutas roxas nativas, e consideradas exóticas, de países tropicais, vêm chamando a atenção de pesquisadores por serem ricas em compostos bioativos, com quantidades relevantes de antocianinas (ACN) (COSTA et al., 2013; HARASYM; OLEDZKI, 2014).

Como já mencionado, as antocianinas são antioxidantes amplamente estudados e podem contribuir para a estabilização de espécies reativas (MOTOHASHI; SAKAGAMI, 2009). O excesso de espécies reativas é capaz de gerar danos oxidativos em macromoléculas celulares com consequente perda de funções biológicas e desequilíbrio homeostático (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Os frutos juçara são reconhecidos por terem grandes quantidades de compostos fenólicos e antocianinas (BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; SCHULZ et al., 2016), os quais têm sido associados a diversas atividades biológicas para a saúde humana. Dentre estas, a atividade antioxidante ganha destaque sendo a mais estudada até o presente momento (BORGES et al., 2013; SCHULZ et al., 2015; CARDOSO et al., 2015a). Outros efeitos também já demonstrados em estudos *in vitro* ou em estudos experimentais com animais são anti-inflamatório, prebiótico (GUERGOLETTTO et al., 2016), além de apresentar ação sobre a diminuição de concentrações séricas de glicose (OYAMA et al., 2016), LDL-c (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015) e triglicerídeos (CARDOSO et al., 2015b). A maioria dos estudos foram realizados *in vitro* ou em modelos experimentais em animais.

O estudo pioneiro em avaliar o efeito da ingestão dos frutos juçara por seres humanos foi realizado por nosso Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO), demonstrando efeito antioxidante por meio da atenuação de dano oxidativo ao longo de 4 horas de ingestão única (CARDOSO et al., 2015a), possivelmente pela ação dos compostos bioativos presentes na exposição administrada. A partir deste estudo se especulou se as antocianinas presentes no suco seriam os compostos responsáveis por esta ação antioxidante.

Apesar de diversos benefícios à saúde serem associados às antocianinas, sua biodisponibilidade é considerada muito baixa, sendo possível a metabolização destes compostos em ácidos fenólicos pela ação da microbiota intestinal (TSUDA, 2012; POJER et al., 2013; FERNANDES et al., 2014; LILA et al. 2016). Os ácidos fenólicos também são relacionados à diversos benefícios à saúde em especial por apresentarem ação antioxidante (HELENO et al., 2015) e poderiam ser os responsáveis pelos benefícios associados às antocianinas (POJER et al., 2013; FERNANDES et al., 2014).

A relevância da presente proposta se dá pela valorização de novas fontes alimentares que possam estar relacionadas com a manutenção da saúde humana. Pesquisas que auxiliem as escolhas alimentares individuais ou a formulação de medidas de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis por meio da alimentação têm sido incentivadas por políticas públicas (JOSEPH; NADEAU; UNDERWOOD, 2002, POJER et al., 2013).

Considera-se emergente o interesse pela comunidade científica a avaliação biológica dos frutos juçara como alimento, devido a sua composição química nutricional (SCHULZ et al., 2016). A partir do crescente e recente número de publicações acerca dos efeitos biológicos exercidos pelos frutos juçara e da importância destes achados para a saúde, considera-se relevante a compilação e organização de dados científicos sobre esta temática a fim de auxiliar o delineamento de perspectivas futuras em torno destes frutos e a saúde humana.

É notável a escassez de ensaio clínico em seres humanos para melhor esclarecer os efeitos da polpa de juçara e seus derivados, os quais podem influenciar a prevenção ou a terapêutica de doenças crônicas. Ainda, é importante enfatizar que os compostos fenólicos presentes nos sucos estão relacionados à diversos efeitos biológicos avaliados *in vitro* e em animais, sendo eles metabolizados pela microbiota intestinal, podendo contribuir para os efeitos biológicos de seus compostos principais.

Quanto à originalidade da proposta, até o presente momento não foram encontradas investigações que abordem a absorção e excreção dos compostos bioativos, antocianinas, e seus metabólitos como os ácidos fenólicos, em plasma e urina de seres humanos, a partir da ingestão do suco de juçara. Reforçando que os frutos juçara necessitam ser estudados com maior profundidade para melhor compreensão do efeito de sua ingestão sobre o organismo humano, considerando ainda, que o açaí é um dos *berries* mais estudados pela comunidade científica (YAMAGUCHI et al., 2015) também se espera contribuir para o conhecimento a partir da

comparação do efeito antioxidante promovido pelos sucos de açai e juçara em seres humanos.

No que tange a sustentabilidade ambiental, estudos acerca da utilização do fruto juçara na alimentação humana podem alavancar sua popularização perante a população e impulsionar a sua produção no país. Desta forma a presente pesquisa pode contribuir no fortalecimento da identidade dos frutos juçara, promovendo a expansão e a valorização de seus frutos e proporcionar um maior conhecimento sobre seus principais efeitos biológicos e benefícios à saúde.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Revisar os efeitos biológicos atribuídos aos frutos juçara e avaliar o efeito da ingestão única sobre biomarcadores de estresse oxidativo, absorção de antocianinas e biodisponibilidade ácidos fenólicos, em indivíduos saudáveis.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Revisar os efeitos biológicos atribuídos aos frutos juçara;
- Realizar a caracterização química e nutricional do suco de juçara;
- Analisar os compostos fenólicos presentes no suco de juçara;
- Avaliar a absorção e excreção de antocianinas e ácidos fenólicos no plasma e urina após ingestão do suco de juçara;
- Avaliar os biomarcadores de estresse oxidativo (capacidade antioxidante sérica - TAC, estado oxidativo total - TOS, catalase - CAT, superóxido dismutase - SOD e glutatona peroxidase - GPx) após a ingestão aguda de suco de juçara e açai.

1.4 ESTRUTURA GERAL DO DOCUMENTO

O presente projeto de tese está estruturado em capítulos, sendo neste primeiro, abordado a apresentação do problema e justificativa; relevância, originalidade e contribuição para o conhecimento, além dos objetivos que norteiam o mesmo. O capítulo dois suporta o referencial teórico, o qual apresenta um resumo da literatura científica que permeia o assunto estudado. O capítulo seguinte descreve a metodologia detalhada aplicada.

No capítulo quatro serão apresentados os resultados da tese sob a forma de artigos científicos, conforme modelo aprovado na 18ª Reunião Ordinária do Colegiado Delegado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina. As considerações finais serão apresentadas no capítulo cinco, seguida das bibliográficas utilizadas, apêndices e anexos referidos ao longo do texto.

O presente projeto de tese foi redigido de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGN/UFSC), sendo formatado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Fonte: Universidade Federal de Santa Catarina (2011).

CAPÍTULO 2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *EUTERPE EDULIS* MARTIUS E *EUTERPE OLERACEA* MARTIUS

O gênero *Euterpe* possui 28 espécies de palmeiras distribuídas nas América do Sul e Central, ocupando florestas de terras baixas e montanhas úmidas (LORENZI, 2010). Este gênero possui grande importância econômica devido à exploração de seus frutos na preparação do açaí, considerado bebida energética exportada para muitas partes do mundo. Alguns autores consideram açaí somente o produto obtido após processamento dos frutos das palmeiras *Eutere oleracea* Martius e *Euterpe precatória* Martius, típicas dos estados do Pará e Amazonas (YAMAGUCHI et al., 2015).

Euterpe edulis Martius é uma palmeira nativa da Mata Atlântica distribuída nos estados do sul e sudeste do Brasil, sendo conhecida popularmente como juçara, palmeira juçara ou palmiteiro (LORENZI, 2010). Durante anos a palmeira juçara ficou conhecida pela extração de seu palmito. O corte do palmito desta palmeira resulta na morte da planta pois não é possível seu rebrotamento resultando assim na sua morte (BOURSCHEID et al., 2011). Lamentavelmente a conservação da palmeira *Euterpe edulis* foi seriamente lesada pelo desmatamento intenso e extração ilegal do seu palmito (SCHULZ et al., 2016).

Por esta razão, a exploração sustentável das espécies *Euterpe edulis*, por meio da exploração de seus frutos na alimentação humana, pode tornar o fruto juçara uma opção de grande valor nutricional, econômico e ambiental (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2016; Da SILVA et al., 2014). Além disso, o desenvolvimento de agroflorestas, com foco na palmeira juçara, pode potencializar a exploração de seus frutos, promovendo acesso a mercados e geração de renda a agricultores (COSTA et al., 2008).

Os frutos juçara são similares aos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea*), esféricos e quando maduros apresentam coloração roxa ou negra com mesocarpo carnoso e fino com a presença de uma semente no seu interior ocupando cerca de 85% do fruto (LORENZI et al., 2006; SCHIRMANN, 2009; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; SCHULZ et al., 2016). A palmeira *Euterpe edulis* produz cachos com 3 a 5 kg de frutos, sendo mais fartos de março a junho (LORENZI, 2010).

Os frutos originários das palmeiras do gênero *Euterpe* não são destinados ao consumo em sua forma *in natura* devido à pequena proporção de polpa (YAMAGUCHI et al., 2015; BICUDO; RIBANI;

BETA, 2014). Por esta razão, passam por processamentos para serem destinados à comercialização e ao consumo humano (SCHULZ et al., 2016; CARDOSO et al., 2018).

A cadeia produtiva da polpa de juçara segue as seguintes etapas: remoção dos cachos, seleção dos frutos, lavagem dos frutos, maceração e mistura com diferentes quantidade de água, despulpamento (separação do epicarpo e mesocarpo das sementes). A polpa obtida pode ser destinada ao consumo imediato ou passar pelo processo de pasteurização, de forma similar ao que ocorre aos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*). Este processo origina um creme roxo comumente chamado de polpa (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; SCHULZ et al., 2016).

Até meados de 2004, a comercialização de açaí nas regiões sul e sudeste brasileiras era feita integralmente pelo açaí proveniente da Amazônia (*Euterpe oleracea*). Contudo, a partir de 2004, foi instalada empresa especializada na região sul, em Santa Catarina mais precisamente, a qual começou a fornecer para esta região também com a polpa de juçara e seus derivados, muito similares aos provenientes do açaí (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*) (BOURSCHEID et al., 2011).

Em 2016, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento submeteu à consulta pública o Projeto de Instrução Normativa, a ser publicado, para padrões de identidade e qualidade de diversas polpas e frutos, considerando os subprodutos derivados dos frutos da *Euterpe edulis*. É a primeira vez que se pondera identificar os padrões de identidade e qualidade dos frutos juçara. A emulsão obtida a partir dos frutos juçara é classificada em juçara grossa, média ou fina, de acordo com a adição de água e a quantidade de sólidos totais. A juçara grossa ou especial possui quantidade de sólidos totais acima de 14%; juçara média ou regular apresenta teor de sólidos totais entre 11 e 14% e juçara fina ou popular exibe sólidos totais entre 8 e 11% (BRASIL, 2016). O Projeto de Instrução Normativa também caracteriza de forma semelhante, o açaí proveniente da *Euterpe oleracea*, considerando as mesmas proporções de sólidos totais, o qual já detinha padrões de identidade e qualidade para sua produção desde 2000 (BRASIL, 2000).

É possível considerar que a produção e comercialização dos frutos juçara se encontra em estruturação no país, com relevância para as produções nas regiões sul (Santa Catarina e Paraná) e sudeste (São Paulo) (COSTA et al., 2008; BORGES et al., 2013). Dados relacionados à produção e exportação dos frutos juçara são escassos. O estado de Santa Catarina é o maior produtor de frutos juçara no Brasil, com 84% da produção nacional e quantidade em torno de 162 toneladas (CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, 2013).

Dados parecem escassos, porém em 2012 a produção de frutos juçara ficou em torno de 193 toneladas enquanto a produção de açaí permeia a quantidade de 202 toneladas, no Brasil (CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2013; BRASIL, 2015).

Os termos para comercialização e *marketing* dos produtos provenientes do fruto juçara, como polpa e suco, ainda são polêmicos, pois a designação açaí atribui importância comercial por sua popularidade, enquanto o nome juçara confere relevância e apelo socioambiental pela importância frente ao bioma da Mata Atlântica (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013). Pesquisadores ponderam que o termo “juçai” possa vir a ser considerado (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013).

O açaí e a polpa de juçara, podem ser considerados perecíveis pela alta carga microbiana que apresenta. Além disso, devido às quantidades de ácidos graxos insaturados presentes na matriz alimentar, este produto está sujeito à oxidação, ocorrendo assim alterações de cor e sabor (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012). Pela perecibilidade, é indispensável a aplicação de algum método de conservação para prolongar a vida útil do açaí (ROGEZ, 2000, AGUIAR; MENEZES; ROGEZ, 2013), sendo a pasteurização o método mais utilizado (KAZUMY et al., 2015). No entanto, este método de conservação pode degradar os compostos bioativos presentes no açaí, devido às altas temperaturas atingidas, impactando na qualidade sensorial e nutricional deste alimento (PACHECO-PALÊNCIA, DUCAN, TALCOTT, 2009, HOFFMAN-RIBANI, HUBER, RODRIGUEZ AMAYA, 2009).

O consumo de açaí no Brasil é amplamente difundido na região norte. A popularização do açaí nesta região teve contribuição da população indígena, introduzindo-o inicialmente nas populações rurais e posteriormente nas populações urbanas (ROGEZ, 2000). No norte do país o açaí é ingerido comumente como acompanhamento de peixes e farinha de tapioca, estando adoçado ou não (YAMAGUCHI et al., 2015).

Na última década houve um aumento considerável da ingestão do açaí como bebida energética nas outras regiões do país, especialmente para as regiões sul e sudeste (YAMAGUCHI et al., 2015). Nestas regiões o açaí é ingerido frequentemente misturado com xarope de guaraná e outras frutas como banana, morango, abacaxi, manga, abacate e kiwi, na forma de polpa ou suco (PAGLIARUSSI, 2010).

Além de conquistar evidência em âmbito nacional, a utilização do açaí como bebida energética tem se destacado em países da Europa e América do Norte, além de China e Japão (PAGLIARUSSI, 2010; HEINRICH et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2015).

A partir do açaí, diversos produtos são elaborados industrialmente, com destaque para bebidas concentradas, polpas congeladas, sucos, polpas liofilizadas e produção de óleos (COSTA et al., 2013). Além da indústria de alimentos, o açaí vem ganhando espaço também nas indústrias farmacêutica e de cosméticos (YAMAGUCHI et al, 2015).

Embora o fruto juçara (*Euterpe edulis*) seja muito similar aos frutos das palmeiras *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória* no contexto sensorial, as quais originam o popular açaí, a composição química nutricional dos frutos juçara é em grande parte, com maior concentração de componentes bioativos quando comparadas às espécies supracitadas (*Euterpe oleracea* e *precatória*). Por esta razão, considera-se emergente o interesse pela comunidade científica a avaliação biológica dos frutos juçara como alimento, devido a sua composição química nutricional (SCHULZ et al., 2016). A figura 1 apresenta a palmeira juçara (*Euterpe edulis*) e os frutos juçara.

Figura1A: Palmeira *Euterpe edulis* Fonte: SCHULZ et al., 2016, adaptado de LORENZI, 2010.

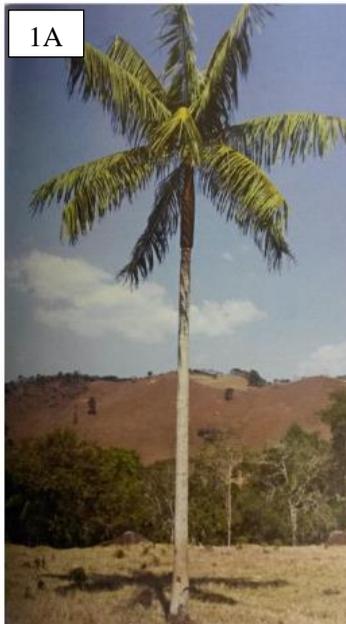


Figura 1B: Frutos juçara (*Euterpe edulis*). Fonte: SCHULZ et al., 2016.



2.1.1 Composição dos frutos de juçara e do açai

A composição química e nutricional dos frutos juçara tem sido descrita por muitos estudos (BORGES et al. 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015; SCHULZ et al., 2017; VIEIRA et al., 2017).

A polpa ou bebida produzida a partir dos frutos juçara possuem importantes propriedades nutricionais para a saúde humana, sendo rica em calorias, fibras, antocianinas, minerais e ácidos graxos insaturados (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). A forma como os frutos juçara são preparados podem resultar em diferentes composições químicas (BORGES et al., 2011).

A polpa de juçara apresenta alta densidade energética (0,8 kcal/mL), principalmente pela presença de lipídios (INADA et al., 2015). Os lipídios são os macronutrientes majoritários nos frutos juçara (BORGES et al., 2011; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015). Dependendo da região de crescimento das palmeiras *Euterpe edulis* e ainda do ciclo de maturação dos frutos, o teor de lipídios pode apresentar variações, em torno de 18,5 – 44,1% (BORGES et al., 2011) ou entre 7,1 e 22,1 g/100 g em matéria seca (SCHULZ et al., 2015), demonstrando grande variação durante o amadurecimento dos frutos.

Considerando a distribuição de ácidos graxos, os frutos juçara apresentam composição em torno de 30% de saturados, 35% de monoinsaturados e 35% de poli-insaturados, de acordo com a região de cultivo em Santa Catarina (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015).

Os ácidos graxos insaturados são predominantes, representando cerca de 50-70% do total da fração lipídica. A proporção de ácido oleico e ácido linoleico, em matéria seca, variou entre 44% e 55%, e entre 18% e 25%, respectivamente (BORGES et al., 2011). Schulz et al. (2015) também evidenciaram que ácido oleico são os principais nos frutos juçara, representando em torno de 35-42% do total de ácidos graxos, em matéria seca.

Poucos estudos identificaram e quantificaram minerais nos frutos juçara. Da Silva et al. (2013) demonstraram grande quantidade de magnésio em amostras de frutos juçara, 974,4 mg/100 g (matéria seca). No entanto, outros estudos apresentaram quantidades muito inferiores para este mineral, 183 mg/100 g (matéria seca) (SCHULZ et al., 2015), 98,0 mg/100 g (c) e 47,4 mg/100 g (matéria seca) (INADA et al., 2015).

Considerando a avaliação do cobre, os valores evidenciados por Da Silva et al. (2013) e Novello et al. (2015) foram de 9930 µg/100 g e 1110 µg/100 g (matéria seca), respectivamente, representando quantidades de grande relevância sendo suficientes para alcançar o valor de referência da recomendação dietética para adultos (RDA - *Recommended Dietary Allowance*) das DRIs (Dietary Reference Intake) para este mineral (900 µg/dia) (IOM, 2001). Inada e colaboradores (2015) apresentou quantidades inferiores a 500 µg/100 g (matéria seca).

Da Silva et al. (2013) denotaram grande quantidade de zinco (27,1 mg/100 g – matéria seca) no fruto juçara, entretanto outros estudos evidenciaram concentrações mais baixas, como Schulz et al. (2015) com 2,8 mg/100 g (matéria seca), Novello et al. (2015) com 2,0 mg/100 g (matéria seca) e Inada et al. (2015), com 0,9 mg/100 g (matéria seca).

Estudos apresentaram quantidades interessantes de manganês, 33,6 mg/ 100 g (matéria seca) (Da Silva et al. 2013) e 23,9 mg/100 g (matéria seca) (Novello et al. 2015), enquanto Schulz et al. (2015) e Inada et al. (2015) evidenciaram valores inferiores, 8,4 e 3,0 mg/100 g (matéria seca), respectivamente. Contudo, todos os valores reportados são superiores aos valores de recomendação de ingestão diária para homens (2,3 mg/dia) e mulheres (1,8 mg/dia) adultos (IOM, 2001), para uma ingestão de 100 g de juçara.

Em relação às quantidades de ferro, Da Silva e colaboradores (2013) encontraram grandes quantidades deste mineral em 100 g de polpa (65,3 mg, em matéria seca) comparado a outros estudos, os quais denotaram 7,2 mg (SCHULZ et al, 2015), 5,2 mg (NOVELLO et al, 2015), e 4,3 mg (INADA et al, 2015) em 100 g de matéria seca, valores os quais suprem cerca de metade dos valores das recomendações

dietéticas diárias de ferro para adultos (homens: 8 mg/dia; mulheres: 18 mg/dia) (IOM, 2001).

Schulz et al. (2017) avaliaram a bioacessibilidade de minerais *in vitro* demonstrando que as frações bioacessíveis do ferro variaram entre 0 a 29,5% com aumento conforme o amadurecimento dos frutos avaliados.

Quantidade relevantes de potássio foram observados em diversos estudos: 998,67 a 1325, 88 mg dependendo do estágio de maturação dos frutos (0-69 dias) (SCHULZ et al., 2017), seguido por 1291, 5 mg (SCHULZ et al., 2015), 1090,8 mg (DA SILVA et al., 2013), 892,2 mg (NOVELLO et al. 2015), e 419,1 mg (INADA et al., 2015), todos ao valores em 100 g de matéria seca.

Considerando cálcio, Da Silva et al. (2013) demonstrou a quantidade de 1040,6 mg/100 g (ms) enquanto Schulz et al. (2015) demonstrou quantidades importantes deste mineral, 596,7 mg/100 g (no estágio 7 de maturação dos frutos, correspondendo ao 69º dia após o surgimento dos frutos), suprimindo aproximadamente metade do valor de ingestão diário recomendado para este mineral em adultos (IOM, 2006).

Outros estudos evidenciaram valores inferiores de cálcio, 76,4 mg e 100 mg/100 g (matéria seca) (NOVELLO et al., 2015; INADA et al., 2015). Além disso, este mineral apresentou relevante bioacessibilidade a partir da avaliação *in vitro* dos frutos juçara, entre 14,3 e 65,6%, entre 7 estágios diferentes de maturação (0 a 69 dias) (SCHULZ et al., 2017).

Considerando as vitaminas presentes nos frutos juçara, de acordo com Rufino et al. (2010), a quantidade de vitamina C presente nos frutos juçara é pequena, comparando-os com outros frutos tropicais (em 100 g de matéria fresca).

A quantidade de vitamina C nos frutos pode apresentar variações devido as características do solo, clima, práticas agrícolas, estágio de amadurecimento dos frutos, bem como colheita, transporte, armazenamento e processo de despolpa. No entanto, o teor de vitamina C presente nos frutos juçara é silimilar a outros frutos não cítricos como amora e ameixa (4 – 11 mg/100 mL) (INADA et al., 2015).

Considerando os carotenoides presentes nos frutos juçara, Rufino et al. (2010) demonstraram quantidade de 1900 µg/100 g em matéria fresca, enquanto Silva et al. (2014) e Inada et al. (2015) apresentaram quantidades menores (737 µg e 414 µg/100 g em matéria fresca, respectivamente). É possível desta forma considerar os frutos juçara fontes moderadas de carotenoides, a partir da divisão de Britton e Khachik

(2009), a qual classifica as quantidades de carotenoides em baixa (0-100 µg), moderada (100-500 µg), alta (500-2000 µg) e muito alta (> 2000 µg).

Novello e colaboradores (2015) em estudo experimental com animais, caracterizaram o teor de β-caroteno no extrato liofilizado de juçara, denotando valor de 2,93 µg/ 100 g, quantidade similar às encontradas no estudo de Schauss et al (2006) para açaí liofilizado (3 µg/ 100 g em matéria seca), enquanto Inada et al. (2015) apresentou valor exacerbadamente superior (86 µg/ 100 g) em matéria seca, denotando grande variação entre os estudos possivelmente pelas condições que envolvem o plantio destas palmeiras.

Os frutos juçara são amplamente estudados ainda pelo teor relevante de compostos bioativos, como as antocianinas e ácidos fenólicos, os quais são associados a potentes atividades biológicas (SCHULZ et al., 2016).

Da Silva et al. (2014) identificou quantidade importante de compostos fenólicos solúveis na polpa de juçara (4087 mg/100 g em matéria seca) com frutos maduros coletados em São Paulo. Já Inada e colaboradores (2015) encontraram valores inferiores para compostos fenólicos solúveis (1695 mg/100 g em matéria seca) em extrato liofilizado com frutos provenientes do Rio de Janeiro, enquanto Bicudo et al. (2014) encontraram valores muito inferiores de compostos fenólicos solúveis e insolúveis (244 mg/100 g em matéria seca) para os frutos juçara coletados no Paraná.

O perfil de ácidos fenólicos nos frutos juçara compreende: protocatechuico, p-hidroxibenzoico, vanílico, clorogênico, cafeico, siríngico, p-cumárico, sinápico e ferúlico (BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; INADA et al., 2015, SCHULZ et al., 2015). Inada e colaboradores (2015) identificaram pela primeira vez, na polpa de juçara, ácidos fenólicos como m-cumárico, transcinâmico, 4-hidroxifenilacético e 3,4-dihidroxifenilacético.

A quantidade de ácidos fenólicos varia de acordo com o estágio de amadurecimento dos frutos. O ácido fenólico majoritário em todos os estágios de amadurecimentos dos frutos é o ácido protocatechuico (SCHULZ et al., 2015). Estudos sugerem que o estágio de amadurecimento e o local geográfico das palmeiras pode interferir na composição de compostos fenólicos nos frutos juçara (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

O principal constituinte da classe de compostos fenólicos nos frutos juçara são as antocianinas (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). As antocianinas encontradas em maior quantidade nos frutos juçara são cianidina-3-O-rutinosídeo e

cianidina-3-*O*-glicosídeo (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; INADA et al., 2015; CASTRO et al., 2014; CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015; GUERGOLETTTO et al., 2016).

Outros subtipos de antocianinas foram identificadas em amostras de juçara: cianidina-3-sambunosídeo (CARDOSO et al., 2015a; NOVELLO et al., 2015; De BRITO et al., 2007); pelargonidina-3-glicosídeo (CARDOSO et al., 2015a; De BRITO et al., 2007); pelargonidina-3-rutinosídeo (NOVELLO et al., 2015; De BRITO et al., 2007), peonidina-3-rutinosídeo (DA SILVA et al., 2014; CARDOSO et al., 2015a; NOVELLO et al., 2015), peonidina-3-glicosídeo (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014), e delfinidina-3-glicosídeo (CARDOSO et al., 2015a; NOVELLO et al., 2015).

Recentemente Vieira e colaboradores (2017) investigaram os principais compostos fenólicos em extratos de juçara utilizando ultra cromatografia em espectrometria de massas. Este estudo demonstrou quantidades de antocianinas, cerca de 26 mg/g em base seca do total de 31 mg/g de compostos fenólicos, em base seca. Cianidina-3-*O*-rutinosídeo foi o tipo de antocianina mais abundante (73% do total dos compostos fenólicos presentes). Outros compostos bioativos identificados em proporções menores foram cianidina-3-*O*-glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, quercetina, rutina, kaempferol, kaempferol-3-rutinosídeo, apigenina, catequina, ácido elágico e 4,5 dicafeoilquínico. Os autores consideram os frutos juçara fontes promissoras de compostos fenólicos, especialmente antocianinas (VIEIRA et al., 2017).

É importante ressaltar que a composição nutricional e de compostos bioativos dos frutos juçara podem sofrer variações, sendo influenciados por diversos fatores: local de plantio e condições de crescimento das palmeiras como altitude, incidência de luz solar e estágio de maturação dos frutos (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; DA SILVA et al., 2014; SCHULZ et al., 2015).

Estudos já demonstraram efeito antioxidante exercido pelos frutos juçara *in vitro* (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; VIEIRA et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014), em modelos experimentais animais (CASTRO et al., 2014) e em seres humanos (CARDOSO et al., 2015b). Estes mecanismos podem atenuar a produção excessiva de espécies reativas (ER) e o estado de estresse oxidativo, os quais serão abordados com maior profundidade na seção seguinte.

2.2 RADICIAIS LIVRES e ESTRESSE OXIDATIVO

Radical livre é definido como qualquer molécula química que contenha um ou mais elétrons desemparelhados, ocupando isoladamente um orbital molecular ou atômico. O elétron desemparelhado confere reatividade aos radicais, tornando-os capazes de reagir com compostos situados próximos a suas órbitas externas desencadeando assim reações de oxidorredução (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) podem ser definidas como metabólitos intermediários do oxigênio com ou sem elétron desemparelhado e consistem na classe mais importante de radicais gerados em sistemas vivos. Muitas vezes os termos “radicais livres” e “espécies reativas de oxigênio” são utilizados como sinônimos, porém nem sempre este uso é verdadeiro, já que existem compostos reativos que não usufruem de elétron desemparelhado, como o caso do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (LUSHCHAK, 2014; SIES, 2015). 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).

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

ERO e ERN relacionam-se com processos fisiológicos no organismo humano, incluindo processos envolvidos na morte celular, proteção contra patógenos, vias de sinalização celular e regulação do tônus vascular (VALKO et al., 2006; VALKO et al., 2007).

A redução monovalente do oxigênio molecular forma o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (MILLER et al., 1990). O $O_2^{\cdot-}$, gerado no interior da mitocôndria, é considerado uma ERO primária, podendo interagir com outras moléculas, originando assim ERO secundárias, como o H_2O_2 e o radical hidroxil (OH^{\cdot}) (CADENAS; SIES, 1998; HALLIWELL, 2006; VALKO et al., 2007; BARBOSA, 2010). Dentre as ERN destaca-se o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), formado a partir do $O_2^{\cdot-}$ e óxido nítrico (NO^{\cdot}) (CARR; MCCALL; FREI, 2000).

Nas células eucarióticas mais de 90% das ERO são produzidas pela mitocôndria do fígado e músculos, por meio da cadeia transportadora de elétrons. Em quantidades menores, as ERO podem ser produzidas pelo

retículo endoplasmático, membranas nucleares e oxidases, sendo influenciadas pela presença dos íons ferro e cobre (KOURY; DONANGELO, 2003; GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; LUSHCHAK, 2014).

Os íons de ferro e cobre, agem como catalisadores das reações na formação de ER. A participação desses metais ocorre por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss. A reação de Fenton origina o radical hidroxil (OH^{\bullet}), pela reação do H_2O_2 com os íons supracitados, enquanto na reação de Haber-Weiss os íons catalisam a reação entre H_2O_2 e O_2^{\bullet} gerando da mesma forma OH^{\bullet} (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Diversos fatores ambientais (radiação ultravioleta, patógenos, poluentes) e relacionados à dieta (ingestão excessiva de carboidratos, gorduras e baixo consumo de vitaminas) podem promover a formação de ER (MAIESE, 2009; BLOOMER; FISHER-WELLMANN, 2009; BHOOSHAN; PANDEY; RIZV, 2009, LIU et al., 2018).

O excesso de ER conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo em células e tecidos (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004; HALLIWELL, 2011). Os danos oxidativos podem acarretar efeitos prejudiciais ao organismo, como a oxidação do ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas, aminoácidos, lipídeos e outras biomoléculas (STOHS, 1996; MCCORD, 2000; HALLIWELL, 2011).

Quando as ERO oxidam ácidos graxos, componentes das membranas celulares, ocorre a peroxidação lipídica (LPO). Este processo se constitui de reações em cadeia, representadas pelas etapas de iniciação, propagação e terminação (SIEMS; GRUNE; ESTERBAUER, 1995; FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O OH^{\bullet} , retira um átomo de hidrogênio dos ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular, sendo considerado principal iniciador deste processo (WELCH et al., 2002). No entanto, a participação do ferro exerce papel importante na etapa de iniciação, por meio da reação $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$. Os íons catalisam a conversão de hidroperóxidos lipídicos (LOOH) em radicais LO^{\bullet} (radical alcóxil) e LOO^{\bullet} (radical peróxil), potencialmente reativos.

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).

Em relação à oxidação proteica, o excesso de ER pode prejudicar as clivagens de ligações, tendo como consequência perda de atividade

enzimática, dificuldade no transporte ativo através das membranas celulares, degradação citosólica de proteases e morte celular (BERGER et al., 1999; JAIN et al., 2013).

Danos ao DNA inclui a quebra da molécula, a qual 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).

A oxidação de biomoléculas gera metabólitos específicos, os quais podem ser identificados e quantificados. Apesar das ER possuírem meia vida curta, o que dificulta sua mensuração em análises laboratoriais, várias metodologias encontram-se disponíveis, cada uma com vantagens e desvantagens (POLJSAK; SUPUT; MILISAV, 2013). Geralmente, o aumento de componentes celulares oxidativamente modificados é aceito como biomarcador de estresse oxidativo (LUSHCHAK, 2014). Os parâmetros para avaliação de danos oxidativos incluem a mensuração de lipídios oxidados (PINCHUK; LICHTENBERG, 2014), proteínas carboniladas (VASCONCELOS et al., 2007; YAN, 2014) e oxidação em ácidos nucleicos (SANTOS et al, 2013).

Quando ocorre incapacidade dos sistemas biológicos em neutralizar a produção excessiva de ER, caracteriza-se o estado de estresse oxidativo (HALLIWELL, 2011). Dentre os fatores que promovem o estresse oxidativo encontram-se: aumento da produção de ER; depleção das reservas antioxidantes; inativação das enzimas antioxidantes ou diminuição da produção das enzimas antioxidantes (LUSHCHAK, 2014).

Se o sistema antioxidante é capaz de neutralizar as concentrações de ER fazendo com que estes valores retornem às concentrações iniciais, este evento pode ser chamado de “estresse oxidativo agudo”. Caso as concentrações de ER aumentem exacerbadamente, estas são capazes de modificar componentes celulares, alterando substancialmente a homeostase, este estado pode ser chamado “estresse oxidativo crônico” (LUSHCHAK, 2014).

O papel do estado de estresse oxidativo na origem e/ou progressão de doenças ainda não se encontra completamente elucidado, mas recebe ampla atenção pela relação com o envelhecimento (FLORA, 2007), doenças cardiovasculares (VICTOR; ROCHA, 2007), doenças neurodegenerativas (SWERDLOW, 2007; HALLIWELL, 2012), obesidade e carcinogênese (HALLIWELL, 2012).

A exposição ao excesso de ER proveniente de fontes diversas levou ao organismo desenvolver uma séria de mecanismos de defesa (CADENAS, 1997). Os mecanismos de defesa consistem na prevenção da

formação de ER e reconstrução de estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo) (BARBOSA, 2010; FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014).

2.3 DEFESA ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são definidos como moléculas que protegem um alvo biológico de danos oxidativos, regenerando o substrato oxidável ou prevenindo a oxidação do mesmo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; HALLIWELL, 2011). A eficácia da ação antioxidante depende da localização dos antioxidantes no interior das células e tecidos, bem como a concentração e local da produção das ER (FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014). O estado antioxidante pode diferir entre os indivíduos e não há valores de referência para as concentrações de antioxidantes no sangue, urina, ou no interior das células (POLJSAK; JAMIK; 2010; POLJSAK; SUPUT; MILISAV, 2013).

A defesa antioxidante pode ser dividida em enzimática e não enzimática. A defesa antioxidante enzimática conta com a atuação de enzimas antioxidantes primárias, representadas pela superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), 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). Os antioxidantes não enzimáticos são substâncias que podem ter origem endógena, como exemplo do ácido úrico e glutatona reduzida (GSH), ou ter origem exógena, sendo adquiridos através da dieta, a exemplo de vitaminas, minerais e compostos fenólicos (BARBOSA, 2010; HALLIWELL, 2011).

A enzima SOD é encontrada sob duas formas: SOD-Cu/Zn situada no citoplasma e SOD-Mn na mitocôndria. Estas enzimas catalisam a conversão do $O_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 e oxigênio (O_2). Já a enzima CAT converte o H_2O_2 em O_2 e água (H_2O) (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007). A GPx localiza-se no citoplasma ou na mitocôndria e possui a função de reduzir hidroperóxidos em H_2O . A enzima GPx também desempenha papel importante no ciclo da glutatona, convertendo a GSH em oxidada (GSSG). Devido à ação oxidante promovida pela GSSG, é imprescindível a atuação da (GR), responsável pela recuperação da GSH (GSSG a GSH), promovendo assim o equilíbrio deste ciclo (ROVER; HOEHR; VELLASCO, 2001; GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; VINCENT; INNES; VINCENT, 2007). Até o presente momento, oito isoformas diferentes de glutatona peroxidase (GPx1-8) foram identificadas no

organismo humano, com afinidade por H_2O_2 e também LOOH (JAIN et al., 2013).

Percebe-se que as enzimas CAT e GPx atuam com o mesmo propósito de impedir o acúmulo de H_2O_2 . Esta ação é de grande importância, visto que a partir do H_2O_2 , por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, ocorre a formação do $OH\cdot$, o qual não possui sistema enzimático hábil de defesa (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; LUSHCHAK, 2014). O $OH\cdot$ é altamente reativo atuando diretamente na formação de danos oxidativo, além de ser iniciador do processo de peroxidação lipídica. Desta forma é de grande importância o equilíbrio entre as enzimas antioxidantes promovendo assim a integridade celular (VALKO et al., 2007; LUSHCHAK, 2014).

Dentre os antioxidantes endógenos não enzimáticos destacam-se o ácido úrico e a glutatona reduzida (GSH). O ácido úrico é proveniente do metabolismo das purinas (MATSUMOTO; HOPKINS, 2004) e pode contribuir para o aumento da atividade antioxidante plasmática após a ingestão de determinadas frutas ricas em frutose, produzindo o chamado “efeito frutose” (LOTITO; FREI, 2004). O ácido úrico pode ser formado pela degradação da frutose-1-fosfato por meio da ação da enzima frutoquinase (YAMAMOTO et al, 1999). A GSH atua em interação direta com as ERO ou servindo de substrato para a enzimas (LUSHCHAK, 2010).

Em relação à defesa antioxidante exógena, componentes antioxidantes adquiridos por meio da ingestão de frutas e vegetais, como vitaminas, minerais e compostos bioativos, como os compostos fenólicos, dentre os quais se destacam as antocianinas, podem contribuir para o aumento da atividade antioxidante plasmática (VALKO et al., 2007; BOUAYED; BOHN, 2010; KARDUM et al, 2014; HARASYM; OLEDZKI, 2014).

Inicialmente, acreditava-se que os antioxidantes presentes nos alimentos diminuiriam a atividade antioxidante endógena, possivelmente por mecanismos de *feedback* de inibição. No entanto, atualmente alguns autores acreditam que os compostos fenólicos podem estimular o sistema de proteção antioxidante endógeno, conferindo proteção celular e tecidual (FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014).

Dentre os antioxidantes provenientes da dieta alimentar, a classe dos compostos fenólicos e mais especificamente as antocianinas, serão abordadas com maior profundidade no item seguinte pela presença em quantidades relevantes nos frutos juçara, foco deste estudo.

2.3.1 Frutos juçara e Atividade Antioxidante

Os frutos juçara são ricos em compostos fenólicos, como já descrito. Por esta razão, o efeito antioxidante dos frutos juçara é o mais descrito na literatura, dentre os efeitos biológicos já estudado (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; CARDOSO et al., 2015b; SCHULZ et al., 2015).

A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos do fruto juçara por meio da desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; CARDOSO et al., 2015a; SCHULZ et al., 2015; RUFINO et al., 2010; VIEIRA et al., 2013) e do método potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) (BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015b; SCHULZ et al., 2015; RUFINO et al., 2010; VIEIRA et al., 2013) foram as metodologias mais utilizadas entre os estudos científicos que propuseram avaliar a atividade antioxidante dos frutos juçara até o presente momento. O método ORAC (do inglês “*Oxygen Radical Absorbance Capacity*”) relacionado à capacidade de absorção dos radicais de oxigênio, também já foi realizado com extrato de juçara (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; INADA et al., 2015).

A capacidade antioxidante avaliada por FRAP, em amostras de extratos de frutos juçara, apresenta variações entre 1158,0 (BORGES et al., 2013) e 2155,0 (CARDOSO et al. 2015b) μmol de equivalente de Trolox/100 g (matéria seca). Considerando amostra de açaí (*Euterpe oleracea*), o valor de capacidade antioxidante avaliada por FRAP se mostra superior (3217,0 μmol de equivalente de Trolox/100 g (matéria seca) (ZIELENSKI et al, 2014).

Valores para o parâmetro de DPPH podem apresentar grandes variações, com valores entre 745,3 μmol de equivalente de Trolox/g em matéria seca (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014) e 2802 μmol de equivalente de Trolox/g em matéria seca (CARDOSO et al., 2015a). Estes valores de capacidade antioxidante são 2,3 a 21 vezes mais altos em extrato de juçara quando comparados aos teores demonstrados para o fruto de açaí (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*, 133,4 e 320,3 μmol de equivalente de Trolox/g em matéria seca, respectivamente) (KANG et al., 2012).

Os valores de ORAC nos extratos de juçara variaram entre 1088,1 e 2071,5 μmol de equivalente de trolox/g em matéria seca no estudo realizado por Bicudo et al. (2014), enquanto os valores apresentados por Inada et al. (2015) para o mesmo parâmetro, demonstrou

valor intermediário (1544 μmol de de equivalente de trolox/g em matéria seca).

O estresse oxidativo pode ocorrer devido ao desequilíbrio entre a produção celular de ER e a capacidade antioxidante na proteção contra essas lesões (LOWE, 2014). A produção excessiva de EROs é relacionada a danos celulares, necrose e apoptose celular devido à oxidação de proteínas, lipídios e DNA (HALLIWELL, 2011).

Estudo recente avaliou o efeito de bioprodutos oriundos dos frutos da *Euperpe edulis* (polpa liofilizada, polpa liofilizada desengordurada e óleo) em ratos com esteatose hepática não alcoólica tratados com dieta hiperlipídica durante 4 semanas. Os animais foram divididos em dieta padrão, dieta hiperlipídica, dieta hiperlipídica combinada com óleo, polpa liofilizada ou polpa liofilizada desengordurada. Os grupos que receberam polpa de juçara (desengordurada ou não) apresentaram atenuação da esteatose e peroxidação lipídica nos tecidos, enquanto o óleo não apresentou o mesmo efeito. O subproduto que apresentou melhores resultados foi a polpa de juçara liofilizada desengordurada, possivelmente devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos, especificamente as antocianinas (FREITAS et al., 2016). A peroxidação lipídica é considerada um marcador de dano lipídico celular, pois os lipídios são alvos suscetíveis de oxidação devido sua estrutura moléculuar (DEL BO et al., 2015). Além disso, antocianinas são potentes antioxidantes, os quais atuam na peroxidação lipídica por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio para as ER (MOTOHASHI; SAKAGAMI, 2009).

A investigação de Castro et al. (2014) avaliou o efeito da adição de polpa de juçara liofilizada à dieta ou em combinação com treinamento aeróbico de intensidade moderada sobre biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatórios no tecido hepático em camundongos ApoE -/-. Animais que receberam exercício moderado demonstraram diminuição na atividade antioxidante da SOD, independente de receberem juçara como intervenção. A possível explicação para a diminuição da atividade da SOD é a diminuição da geração de ERO no fígado devido ao exercício. Esta diminuição do estresse oxidativo está relacionada com a diminuição da exigência de reposta protetora devido ao treinamento moderado (CASTRO et al., 2014).

O estudo experimental de Novello e colaboradores (2015) dividiu animais em cinco grupos de análise: controle positivo - G1 (ratos knockout de ApoE, com dieta padronizada - AIN-93M), controle negativo - G2 (ratos C57BL / 6, com dieta AIN-93M), G3 e G4 (ratos knockout de ApoE, com dieta AIN-93M adicionada de 2% e 6% de extrato de juçara

liofilizado, respectivamente) e G5 (ratos knockout de ApoE, com dieta com AIN-93M adicionada de 50 mg/kg/d de sinvastatina, utilizado para diminuir as concentrações de colesterol total). Camundongos ApoE $-/-$ apresentam deficiência em um receptor proteico e, por essa razão, têm níveis elevados de colesterol e alta suscetibilidade para desenvolver aterosclerose e esteatose hepática (KOSTOGRYS et al., 2012). Estes animais têm sido utilizados para investigar fatores de risco para distúrbios do metabolismo lipídico e potencial terapêutico de compostos naturais em doenças hepáticas. Essas condições estão relacionadas à produção exacerbada de ER (GONÇALVES et al., 2012; NOVAES et al., 2012) e, portanto, fontes alimentares ricas em compostos fenólicos com potencial antioxidante são de grande interesse. Novello et al. (2015) demonstraram diminuição significativa nas atividades enzimáticas de CAT e SOD foi observada nos grupos G3 e G4 quando comparado ao grupo controle positivo (G1). Ademais, os autores relataram que o extrato de juçara possivelmente forneceu atividade antioxidante exercida por essas enzimas através da ação dos ACNs e seus metabólitos (NOVELLO et al., 2015).

Cardoso e colaboradores (2015a) avaliaram o potencial antioxidante do extrato de juçara em ratos dislipidêmicos (ApoE $-/-$). Os grupos tratados com 2%, 6% e 10% de extrato de juçara adicionado à dieta e uma dieta com 2% de α -tocoferol apresentaram atividade da CAT diminuída em relação aos camundongos controle (C57BL/6) com dieta padrão. Além disso, o grupo de animais que recebeu dieta com extrato de 6% de juçara apresentou menor atividade de SOD que os demais grupos. Segundo os autores, nem sempre os compostos fenólicos influenciam a atividade antioxidante enzimática, sendo que resultados contraditórios podem ocorrer por diversos fatores, como etiologia do estresse oxidativo nos estudos experimentais, modelos animais utilizados e fonte de compostos fenólicos investigada (CARDOSO et al., 2015a).

O recente estudo de Freitas et al. (2017a) investigou o efeito da intervenção com juçara em quatro grupos de ratos *Wistar*, durante 50 dias, os quais receberam: dieta comercial (controle), G2 (dieta comercial adicionada de 4% de extrato de juçara), G3 (dieta comercial adicionada de 10% de polpa liofilizada de juçara) e G4 (dieta comercial adicionada de 10% de polpa liofilizada de juçara desengordurada). Os resultados mostraram que os grupos G3 e G4 diminuíram a peroxidação lipídica. Além disso, o grupo que recebeu polpa desengordurada (G4) diminuiu a atividade enzimática de CAT, glutatona S-transferases e SOD quando comparado aos demais grupos. Os autores relacionaram estes resultados com a diminuição da produção de ER pela ação de antioxidante

(FREITAS et al., 2017a; LEI et al., 2016). Ressalta-se que a polpa liofilizada de juçara apresentou maior concentração de antocianinas neste estudo.

Freitas et al. (2017b) apresentaram o efeito antioxidante e tóxico de dietas de cafeteria adicionadas de extrato de juçara, nos tecidos renais e cardíacos em ratos *Wistar*. Os principais resultados foram o aumento significativo na atividade da CAT nos tecidos de animais alimentados com as seguintes dietas: dieta de cafeteria adicionada de 5% de extrato liofilizado de *Euterpe edulis*, dieta de cafeteria adicionada de 10% de extrato liofilizado de *Euterpe edulis* e dieta de cafeteria adicionada de 10% de extrato liofilizado desengordurado de *Euterpe edulis*. Não foi evidenciado efeito sobre a peroxidação lipídica a partir das intervenções propostas com extrato proveniente do fruto juçara. Entretanto o estudo sugere prevenção do estresse oxidativo causado pela dieta de cafeteria, devido ao aumento da atividade enzimática em tecidos cardíacos de animais alimentados com *Euterpe edulis*. Os autores hipotetizaram que os extratos de *Euterpe edulis* impediram a inibição da expressão destas enzimas, promovendo assim um aumento da sua atividade antioxidante enzimática.

Até o presente momento o único ensaio clínico com seres humanos e ingestão de um subproduto do fruto juçara foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa. Em um ensaio clínico com ingestão de suco de juçara, indivíduos saudáveis tiveram biomarcadores de estresse oxidativo avaliados antes e após 1 h, 2 h e 4 h de uma única dose de 450 mL (451,9 mg de C3-G /100 g de antocianinas monoméricas totais e 442,7 mg de Equivalente Ácido Gálico (EAG)/100 g de fenólicos totais). Os frutos foram processados com a adição de água e apresentava 33,4 g de sólidos totais de juçara na amostra ingerida. Análise de variância de medidas repetidas revelaram uma diminuição significativa da peroxidação lipídica ao longo do tempo (interação entre tempo e tratamento). O tratamento teve um efeito significativo na GPx, com uma atividade máxima de 2 h após o consumo agudo (CARDOSO et al. 2015b).

Considerando os estudos expostos acima é possível considerar que os resultados de estudos experimentais em animais que avaliaram o efeito da intervenção com juçara sobre enzimas antioxidantes ainda permanecem controversos. Alguns estudos demonstram diminuição da atividade enzimática de SOD e CAT (CARDOSO et al. 2015a; NOVELLO et al. 2015; FREITAS et al. 2017a), enquanto outros estudos reportaram aumento da atividade enzimática tecidual de CAT (FREITAS et al. 2017b) e GPx em amostras de hemolisado em ensaio clínico (CARDOSO et al. 2015b).

Antioxidantes exógenos obtidos a partir da alimentação podem melhorar a atividade antioxidante endógena fortalecendo os mecanismos de defesa antioxidante neutralizando ER, diminuindo assim os níveis de atividade das enzimas antioxidantes (BHOOSHAN; PANDEY; RIZV, 2009; HARASYM; OLEDZKI, 2014).

De acordo com Lei et al. (2016), as enzimas antioxidantes promovem a neutralização de ER. Assim, a diminuição da produção de ER ou sua atenuação podem ser correlacionadas com a diminuição da expressão das enzimas antioxidantes. Assim a diminuição da produção de ER pode ocorrer por meio da ação de compostos bioativos, como as antocianinas e seus metabólitos, presentes nos extratos oriundos dos alimentos (TSUDA, 2012), os quais podem atingir os tecidos afetando assim o potencial antioxidante endógeno.

No entanto, sugere-se que as antocianinas podem estimular a defesa antioxidante endógena por mecanismos indiretos como ativação de genes que codificam estas enzimas (SHIH; YEH; YEN, 2005), reparo e estímulo da atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx (TOUFEKTSIAN et al., 2008). De acordo com a revisão de Del Bo e colaboradores (2015), acerca do efeito dos berries sobre biomarcadores de estresse oxidativo, ensaios clínicos que utilizaram intervenções com frutos ricos em antocianinas, demonstraram que a modulação de enzimas antioxidantes endógenas parece permanecer incerta, uma vez que trabalhos demonstram aumento na atividade destas enzimas após intervenção, enquanto outros não expressam resultados significativos. Ainda assim, a atividade antioxidante enzimática é influenciada por vários fatores, como o modelo animal e o tipo de extrato utilizado em ensaios experimentais (CARDOSO et al., 2015a).

Os compostos fenólicos são relacionados com a modulação de biomarcadores de estresse oxidativo (DEL BO et al., 2015). Por essa razão, é necessário investigar a biodisponibilidade dos principais compostos bioativos presentes nos frutos de juçara e seus metabólitos gerados durante a digestão e absorção em humanos ou modelos experimentais *in vivo*, possibilitando a confirmação da sugestão de seus benefícios à saúde.

2.3.2 Antocianinas e Ácidos fenólicos

Estudos têm demonstrado que a ingestão de frutas e verduras, promove efeito protetor ao organismo, especialmente pela presença de compostos fenólicos, diminuindo o risco para diversas doenças crônicas

não transmissíveis (CROWE et al., 2011, SPENCER; CROZIER, 2012; DEL RIO et al., 2013; GUERRA et al., 2015; LIU et al., 2018). A ingestão de pelo menos 400 g de frutas e verduras é recomendada pela Organização Mundial da Saúde. No entanto, não há recomendações para a ingestão de antioxidantes, sendo a variedade da dieta, a melhor forma de obtê-los (ARGUELLES et al., 2007).

Frutas nativas da América do Sul têm sido menos estudadas em comparação a frutas da Europa e América do Norte (CLERICI; CARVALHO-SILVA, 2011; COSTA et al., 2013). Porém, o interesse por frutas nativas e exóticas de países tropicais vem crescendo, especialmente pela composição nutricional de tais frutas com altos teores de compostos fenólicos, como as antocianinas (SCHRECKINGER et al., 2010; COSTA et al., 2013; HARASYM; OLEDZKI, 2014).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas atuando em seu crescimento, desenvolvimento, proteção e atração de agentes polinizadores (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Esses compostos são classificados em flavonoides e não flavonoides e apresentam pelo menos um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, as quais possibilitam sua atuação como agentes redutores, exercendo proteção ao organismo contra o estresse oxidativo (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000; ASAMI et al., 2003; DIETRICH; RECHNER; PATZ, 2004; BENVENUTI et al., 2004; CROZIER et al., 2006). Além disso, no organismo humano, exercem proteção celular ou tecidual pelo estímulo do sistema de proteção antioxidante endógeno (FORMAN; DAVIES; URSINI, 2014).

Os flavonoides possuem moléculas de 15 carbonos com dois (Figura 1; A e B) anéis aromáticos conectados por uma ponte de três carbonos (C₆-C₃-C₆). As principais subclasses destes compostos são as flavonas, flavonóis, flavan-3-óis, isoflavonas, flavononas e antocianidinas. A estrutura básica dos flavonoides pode ter diversos substituintes, sendo a maioria glicosídeos (DEL RIO et al., 2013) e é apresentada na figura 1-A.

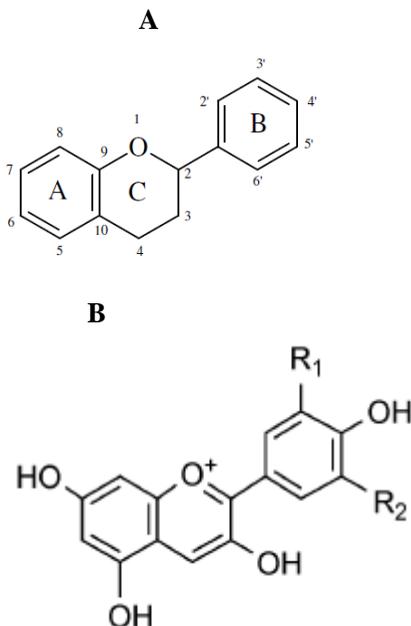
As antocianidinas (fração livre dos açúcares) mais comuns são: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina, e malvidina, as quais formam conjugados com glicosídeos e ácidos orgânicos, originando diversas estruturas de antocianinas (JAGANATH; CROZIER, 2011; OZEKI et al., 2011; TSUDA, 2012). A figura 1-B apresenta estrutura das antocianidinas.

As antocianinas são responsáveis pelas cores vermelha e azul em frutas, flores e folhas (STRACK; WRAY, 1993). Estes compostos naturais são representados na alimentação humana pelos *berries*, frutas

vermelhas, azuis e roxas. As diferenças estruturais das antocianinas podem ocorrer através do número e posição do grupo hidroxil (OH), grau de metilação, natureza, número e local das moléculas de açúcar, além do número de ácidos aromáticos anexados à molécula de açúcar. O processo de glicosilação confere às antocianinas aumento da estabilidade e solubilidade em água (MAZZA et al., 2007).

Por intermédio de vias indiretas, as antocianinas promovem a defesa antioxidante endógena por meio de mecanismos como: estímulo da atividade antioxidante enzimática da SOD e GPx, consequentemente aumentando a concentração de glutatona e ativação de genes que codificam estas enzimas (SHIH; YEH; YEN, 2005; TOUFEKSIAN et al., 2008; POJER et al., 2013).

Figura 2: Estrutura química dos flavonoides (BRAVO, 1998) (A) e Estrutura das antocianidinas, as quais diferem-se em: pelargonidina ($R_1 = H$, $R_2 = H$); cianidina ($R_1 = OH$, $R_2 = H$); Delfinidina ($R_1 = OH$, $R_2 = OH$); peonidina ($R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$); petunidina ($R_1 = OCH_3$, $R_2 = OH$); malvidina ($R_1 = OCH_3$, $R_2 = OCH_3$) (B) (CROZIER; JAGANATHB; CLIFFORD, 2009).



Estudos têm sugerido que as antocianinas exercem efeitos benéficos à saúde, destacando-se efeito antioxidante, anti-inflamatório, propriedades anticarcinogênicas, proteção contra doenças cardiovasculares, bem como diminuição do risco de diabetes e distúrbios cognitivos (ZAFRA-STONE et al., 2007; HE; GIUSTI, 2010; TSUDA, 2012; FERNANDES et al., 2014; PALA et al., 2018).

Como a presente investigação propõe avaliar o efeito antioxidante da ingestão aguda do suco de juçara em indivíduos saudáveis, o quadro 1 sumariza artigos que avaliaram a exposição da ingestão única de frutos, sucos ou polpas ricos em antocianinas sobre biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis. Os unitermos utilizados para esta busca foram: “anthocyanin” and “antioxidant” or “oxidative stress” and “acute” or “single” and “ingestion” or “consumption” and “clinical trial”, utilizando a base de dados *Scopus*.

Quadro 1: Estudos que avaliaram a ingestão única de frutos, sucos ou polpas ricos em antocianinas sobre biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis.

Autores / Ano	Objetivo	Biomarcadores de estresse oxidativo avaliados <i>in vivo</i>	Conclusão
Jensen et al., 2008	12 indivíduos; Investigar a ingestão de 120 mL de suco de <i>berries</i> (maior constituinte o açaí) e placebo (em cápsulas) antes e após 0,5h, 1h e 2h.	TBARS, CAP-e, formação de ERO por células PMN.	↑ Atividade antioxidante (CAP-e) após 1h e 2h. ↓ TBARS após 2h.
Mertens-Talcott et al., 2008	12 indivíduos; Avaliar a ingestão de 7 mL/kg de peso de cada indivíduo, das	Antocianinas plasmáticas, ORAC, ácido úrico e formação de ERO intracelular.	↑ ORAC (plasma) após ingestão da polpa de açaí, suco clarificado de

	<p>intervenções de polpa de açaí, suco clarificado de açaí e bebida placebo, antes e após 0,5, 1, 2, 4, 6, e 12 h no sangue e nos períodos de 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, e 12-24h na urina.</p>		<p>açaí e bebida placebo. Concentrações máximas de antocianinas foram detectadas 2332 ng/L em 2,2h para polpa e 1138 ng/L em 2h após ingestão do suco. Urina: capacidade antioxidante foi significativamente maior em todos os tratamentos no tempo 9-12h.</p>
<p>Hassimotto; Pinto; Lajolo, 2008</p>	<p>6 indivíduos; Avaliar a ingestão de suco de amora contendo 400 mg de cianidina/50 kg de peso corporal, diluídos em 200 mL de água (SAA), 200 mL de leite desengordurado (SAD), antes e após 0,5, 1, 2, e 4h de ingestão. Urina foi coletada antes e ao longo dos períodos 0-1, 1-2, 2-4, e 4-6h.</p>	<p>Antocianinas plasmáticas. Enzimas antioxidantes: CAT e GPx. ORAC, DPPH, ácido úrico, vitamina C.</p>	<p>↑ Vitamina C (após sucos de amora) ↑ CAT (entre 30 mim e 2h) Correlação forte direta entre atividade antioxidante (ORAC) e vitamina C ($r = 0,93$) Correlação inversa entre atividade antioxidante e ácido úrico ($r = -0,79$) Urina: capacidade</p>

			antioxidante (ORAC e DPPH) foram associadas com as concentrações de antocianinas e ácido úrico.
Jin et al., 2011	20 indivíduos; Investigar a ingestão de 250 mL de suco de groselha e bebida controle antes e após 8h.	ORAC, FRAP, vitamina C, ácido úrico. Ácidos fenólicos plasmáticos	Correlação entre FRAP e ácido úrico; Correlação entre ORAC e ácido úrico. ↑Vitamina C
Del Bo et al., 2013	10 indivíduos; Avaliar a ingestão de 300 g de mirtilos e controle (geléia), antes e após 1h, 2h e 24h.	Antocianinas plasmáticas; Avaliação do dano oxidativo ao DNA (induzido por H ₂ O ₂).	↑ ACN após 1h e 2h. ↓ Dano oxidativo ao DNA em 1h.
Mathinson et al., 2014	12 indivíduos; Avaliar a ingestão do extrato das folhas de <i>cranberry</i> (oxicoco) (EFC), suco de baixa caloria de <i>cranberry</i> (SBCC) e placebo antes e após 2h, 4h, 8h e 24h.	GSH, GSSH. Enzimas antioxidantes: GPx, SOD. Danos oxidativos: 8-OH-dG	↑ GSH – SBCC após 24h. ↑ SOD – EFC e SBCC em 24h. ↑ GPx – EFC em 2h
Cardoso et al., 2015	Avaliar a ingestão de 450 mL de suco de	Enzimas antioxidantes: GPx, SOD, CAT.	Efeito tratamento sobre FRAP e GPx.

	juçara e controle (água).	Parâmetros antioxidantes: FRAP, ácido úrico. Dano oxidativo: LOOH.	Interação entre tempo e tratamento em LOOH.
Toaldo et al., 2015	Avaliar a ingestão de 400 mL de suco de uva (convencional e orgânico), utilizando controle (água), antes e após 1h.	Oxidação lipídica: TBARS, LOOH.	↓ TBARS (comparado ao controle) ↓ LOOH (comparado ao basal)

TBARS: do inglês *Thibarbituric Acid Reactive Substances*; CAP-e: do inglês *cell-based antioxidant protection in erythrocytes*; PMN: células polimorfonucleares; ORAC: do inglês *Oxygen radical absorbance capacity*; CAT: catalase; GPx: glutatona peroxidase; DPPH: radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; FRAP: do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Potential*; LOOH: Hidroperóxidos lipídicos; ACN: antocianinas; GSH: glutatona reduzida; GSSH: glutatona oxidada; SOD: superóxido dismutase; 8-OHdG, 8-hydroxydeoxyguanosine.

2.3.3 Absorção e biodisponibilidade das antocianinas e ácidos fenólicos

A quantidade de compostos bioativos presente nos alimentos pode não refletir a quantidade absorvida e metabolizada pelo organismo. Um composto bioativo pode apresentar determinada atividade biológica *in vitro* e *in vivo* em animais, porém não ser biodisponível, ou ser rapidamente metabolizado e excretado, tornando-se assim ineficaz no organismo humano. Por isso, o entendimento dos fatores que levam à liberação dos compostos da matriz do alimento, a extensão da absorção e o seu papel real no organismo são cruciais para determinação dos seus mecanismos de ação e da sua influência na promoção e manutenção da saúde humana (HORST; LAJOLO, 2012).

A liberação dos compostos bioativos da matriz alimentar (bioacessibilidade) torna um composto disponível para sua absorção (LILA et al., 2016). A absorção consiste no movimento do composto do lúmen digestivo para a circulação sanguínea, enquanto a distribuição é o processo no qual os compostos são difundidos do espaço intravascular para o extra vascular; o metabolismo ocorre por meio da conversão de um composto às suas respectivas formas mais eletrofílicas, tornando-as mais suscetíveis à excreção, pelas vias renal ou biliar (HOST; LAJOLO, 2012). Os componentes fenólicos presentes na secreção biliar podem ser reabsorvidos via circulação entero-hepática, que é típica dos ácidos biliares, ou excretados pelas fezes e pela urina (LILA et al., 2016).

A biodisponibilidade das antocianinas tem sido revisada extensivamente por diversos autores e apesar de muitos benefícios serem relacionados a esses compostos, sua biodisponibilidade é considerada muito baixa (KAY, 2006; TSUDA, 2012; POJER, 2013; FERNANDES e al., 2014; LILA et al., 2016). Por esta razão, o estudo das antocianinas pode formar um paradoxo para cientistas, pois como seria possível as antocianinas influenciarem e serem relacionadas a benefícios à saúde se seriam tão mal absorvidas, sendo detectadas na circulação em concentrações traços (LILA et al., 2016).

As antocianinas podem aparecer rapidamente no plasma, devido à absorção gástrica, porém a maior parte da absorção ocorre no intestino delgado. Desta forma, motilidade do trato gastrointestinal e fatores que alterem o esvaziamento gástrico podem afetar a cinética de absorção (LILA et al., 2016).

Estudos em modelos experimentais com animais, as antocianinas alcançaram o sistema circulatório em poucos minutos, entre 6 e 20 minutos após a ingestão, atingindo concentrações máximas no plasma após 15 a 60 minutos (MATSUMOTO et al., 2001; PRIOR; WU, 2006; MCGHIE; WALTON, 2007; POJER et al., 2013; FERNANDES et al., 2014). Kay (2006) observou em seu estudo de revisão, que a concentração máxima de antocianinas em seres humanos está entre 1,4 e 592 nmol/L e ocorre em 0,5 e 4 horas após a ingestão (doses de 68 a 1300 mg). A média de excreção urinária evidenciada é entre 0,03% e 4% da dose ingerida, com eliminação e meia-vida entre 1,5 e 3h.

A solubilidade em água limita a absorção das antocianinas por difusão passiva, sendo requerido mecanismo de transporte específico da molécula de glicosídeo, transportador de glicose sódio dependente (SGLT1) através da parede do intestino, havendo hidrólise da molécula de aglicona no intestino delgado (MANACH; MAZUR; SCALBERT, 2005; KAY, 2006; LILA et al., 2016). Em contraste, as porções agliconas das antocianinas (antocianidinas), são mais hidrofóbicas e atravessam por difusão passiva através da mucosa epitelial (HOLLMAN 2004; ARTS et al., 2004; POJER, 2013). Considera-se que a biodisponibilidade das antocianinas depende significativamente de sua estrutura química, sendo influenciada pela natureza da molécula de glicosídeo e também pela sua estrutura aglicona (CROZIER; JAGANATHB; CLIFFORD, 2009; POJER et al., 2013; LILA et al., 2016).

Em condições ácidas, as antocianinas são relativamente estáveis. No entanto, sob condições de pH básico ou neutros, as antocianinas tornam-se instáveis. Na forma chalcona, as antocianinas são mais sensíveis à fatores físico-químicos, podendo ocorrer degradação irreversível (BROUILLARD; HARBORNE, 1988). Desta forma as antocianinas são pouco modificadas pelas condições gástricas (pH baixo), mas são extensivamente transformadas pela bile, sais biliares e pela microflora intestinal (pH neutro) (GALVANO et al. 2009; FERNANDES et al., 2014).

No que se refere à composição da matriz alimentar, outros antioxidantes, micronutrientes e macronutrientes, podem afetar a absorção e a capacidade antioxidante das antocianinas (YANG et al., 2011). Estes fatores podem dificultar a avaliação das antocianinas no plasma e urina, porém não impossibilita sua avaliação em termos de absorção e excreção (CROZIER; JAGANATHB; CLIFFORD, 2009). Em relação a meios lipofílicos, Fernandes e colaboradores (2014), acreditam que este tipo de matriz pode facilitar a solubilização e absorção dos flavonoides.

A microbiota colônica hidrolisa a porção glicosídea das agliconas e as degrada em ácidos fenólicos e aldeídos (KEPPLER; HUMPF 2005; McGHIE; WALTON, 2007; GALVANO et al., 2009; FERNANDES et al., 2014; LILA et al., 2016). Os ácidos fenólicos, incluindo ácido siríngico, ácido vanílico, ácido gálico e ácido protocatecuico, têm sido considerados metabólicos das antocianinas. Dentre os ácidos fenólicos avaliados, o ácido protocatecuico tem sido ponderado como principal metabólito da fração de antocianina cianidina-3-glicosídeo (KEPPLER; HUMPF, 2005; AVILA et al., 2009; FORESTER; WATERHOUSE, 2010).

Ao se avaliar os benefícios das antocianinas à saúde é importante considerar também os potenciais efeitos desses metabólitos no organismo humano (VITAGLIONE et al., 2007; AZZINI; VITAGLIONE; INTORRE, 2010; POJER et al., 2013). Alguns autores acreditam que os efeitos benéficos produzidos pelas antocianinas sejam atribuídos pela liberação contínua de seus metabólitos, como os ácidos fenólicos, através do intestino para a corrente sanguínea (VITAGLIONE et al., 2007; CROZIER; JAGANATHB; CLIFFORD, 2009; POJER et al., 2013; FERNANDES et al., 2014; FANG, 2014). Sugere-se que a proporção de ácidos fenólicos derivados das antocianinas aumenta conforme a passagem pelo trato gastrointestinal e quanto mais as antocianinas são metabolizadas, mais o *pool* de ácidos fenólicos aumenta (LILA et al., 2016).

A proporção da absorção dos metabólitos depende da susceptibilidade de organelas (como receptores, enzimas e transportadores) e poderá variar de acordo com a microflora intestinal e perfil genético de cada indivíduo avaliado, não sendo possível quantificar a magnitude destas variações (CROZIER; JAGANATHB; CLIFFORD, 2009). Além disso, idade, gênero, hábitos alimentares e ainda a metodologia aplicada, também poderão influenciar a avaliação da biodisponibilidade das antocianinas (FERNANDES et al., 2014).

Outros fatores que podem contribuir para a baixa concentração sérica das antocianinas seriam as baixas concentrações alcançadas pelos metabólitos, insuficientes para detecção, e ainda a ligação das antocianinas a outros componentes, não participando assim das frações analisadas (MAZZA, 2007; FERNANDES et al., 2014).

Desta forma percebe-se que são muitos os desafios relacionados à avaliação da biodisponibilidade das antocianinas em ensaios clínicos ou em modelos experimentais animais dentre os quais se destacam a baixíssima concentração circulante das formas intactas ou agliconas e a

falta de padrões analíticos para a vasta diversidade de metabólitos possíveis (POJER et al., 2013; LILA et al., 2016)

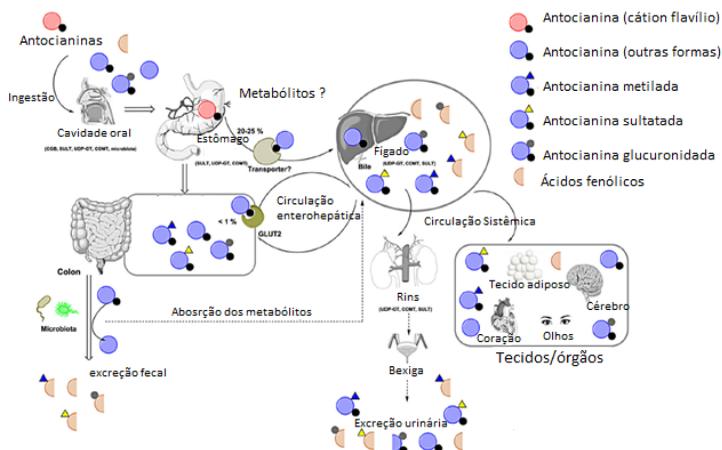
Além de serem originados da metabolização das antocianinas, os ácidos fenólicos estão presentes em diversos alimentos e têm sido extensivamente estudados devido suas propriedades bioativas, especialmente por sua relação com a prevenção de doenças. Os ácidos fenólicos são rapidamente metabolizados no corpo humano, circulando como metabólitos gluconidados, sulfatados e metilados, podendo apresentar bioatividades. Estes compostos são divididos em dois grupos principais: ácidos hidrobenczoicos e ácidos hidroxicinâmico, derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, respectivamente (HELENO et al., 2015).

As principais reações envolvidas na formação dos ácidos fenólicos são desaminação, hidroxilação e metilação (GROSS, 1985). A degradação da cadeia lateral do ácido cinâmico pode originar o ácido benzoico, enquanto reações de hidroxilação e metilação no anel aromático dos ácidos benzóicos podem originar seus derivados como ácido protocatechuco e ácidos p-hidrobenzoico (GROSS, 1985).

Os ácidos fenólicos apresentam atividade biológicas em especial propriedade antioxidantes devido à presença do grupamento hidroxil ligado nas estruturas dos anéis aromáticos. Estas moléculas podem atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio, inibidores de oxigênio *singlete*, captadores de O_2^- e quelantes de metais sobre $OH\cdot$ e $LOO\cdot$ (TERPINC et al., 2011). Para isso muitos autores medem as concentrações de ácidos fenólicos no plasma e urina após a ingestão de uma matriz alimentar contendo compostos fenólicos (HELENO et al., 2015).

Desta forma, ao se considerar os efeitos benéficos associados aos alimentos ricos em antocianinas e a baixa biodisponibilidade destes compostos demonstradas *in vivo*, tais afirmações constituem um paradoxo. Como possível plausibilidade para explicar estes paradoxos, Fernandes e colaboradores (2014) sugerem que a atividade biológica proposta para as antocianinas pode ser decorrente de seus metabólitos, que em sinergismo, podem ser responsáveis pelos benefícios associados a esses antioxidantes (Figura 2) (FERNANDES et al., 2014).

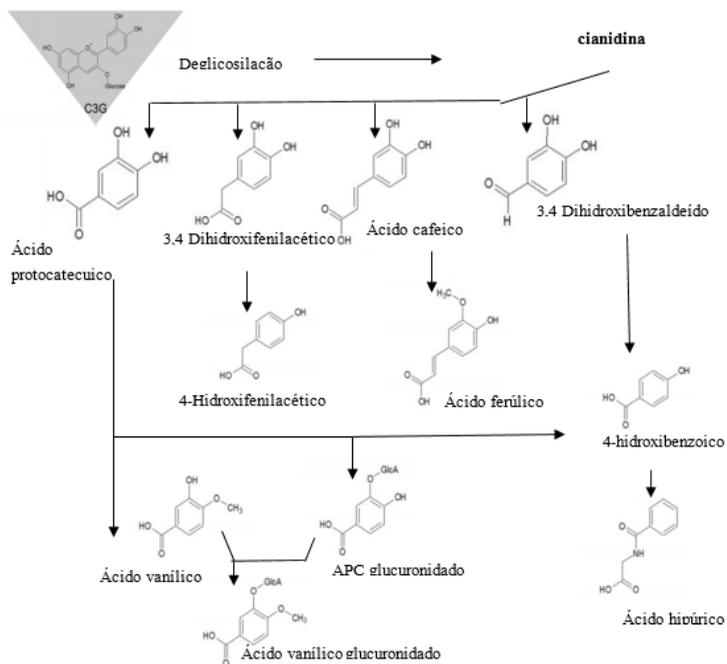
Figura 3: Absorção, distribuição, metabolismo e excreção das antocianinas adaptado de Fernandes et al. 2014.



Conforme descrito na figura 2, as antocianinas em pequena proporção podem ser absorvidas diretamente no estômago ou podem ser conjugadas no fígado por processos de sulfatação, glucuronidação e metilação. As antocianinas metabolizadas que alcançam o cólon sofrem degradação com a predominância de ácidos fenólicos, podendo ser excretados pelas fezes. No entanto, parte das antocianinas metabolizadas pelo fígado seguem para o sistema urinário, onde sofrem mais processos de conjugações e também podem ser transformadas em ácidos fenólicos, os quais também são mais encontrados em maior quantidade quando comparados ao teor de antocianinas nas amostras de urina (FERNANDES et al., 2014; LILA et al., 2016).

Ainda, os ácidos fenólicos mais comumente encontrados a partir da deglicosilação da cianidina-3-O-glicosídeo são os ácidos protocatecuico, 3,4 dihidroxifenilacético, cafeico e 3,4 dihidroxibenzaldeído. A partir de processos de metabolização estes ácidos fenólicos podem originar os ácidos 4-hidroxifenilacético, ferúlico e 4-hidroxibezoico. Este último pode dar origem ao ácido hipúrico, além disso o ácido protocatecuico pode ainda originar os ácidos vanílico e protocatecuico glucuronidado, os quais podem ser conjugados formando o ácido vanílico glucuronidado (DE FERRARS et al., 2014), conforme apresentado na figura 3.

Figura 4 - Metabolização da cianidina-3-O-glicosídeo em ácidos fenólicos adaptado de De Ferrars et al. (2014).



Adaptado de De FERRARS et al., 2014

CAPÍTULO 3 – MÉTODOS

3.1 ETAPAS DA PESQUISA

O estudo foi dividido em três etapas. Inicialmente foi realizada revisão de literatura referente à composição fitoquímica e efeitos biológicos relacionados aos frutos juçara e produtos derivados (suco, polpa e extrato liofilizado), Etapa 1. A Etapa 2 da presente tese foi caracterizada por um ensaio clínico com o objetivo de avaliar a absorção e excreção dos principais compostos bioativos do suco de juçara em plasma e urina de dez indivíduos saudáveis após ingestão aguda do suco, além do potencial antioxidante sérico e dos eritrócitos nos mesmos indivíduos.

A Etapa 3 ocorreu em fase independente das demais e foi constituída de um novo ensaio clínico que propôs identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes em amostras de sucos de juçara e açai, além de comparar o potencial antioxidante sanguíneo destas intervenções em onze indivíduos saudáveis.

Os sucos foram produzidos pela empresa Duas Rodas, empresa especializada localizada em Jaraguá do Sul, Santa Catarina, seguindo padrões de qualidade para o processamento e armazenamento das amostras.

A presente proposta contou com o financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por contemplação no Edital MCT/CNPq Nº 14/2012 – UNIVERSAL.

3.2 ETAPA 1: ATUALIZAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO FRUTO JUÇARA (*EUTERPE EDULIS*)

3.2.1 Revisão não sistemática

A revisão foi conduzida nas bases de dados *Medline* (via *Pubmed*) e *Science Direct* (via *Scopus*). Os artigos elegíveis seguiram os seguintes critérios: avaliar os efeitos biológicos *in vitro*, *in vivo* ou por meio de ensaios clínicos a partir de exposição à polpa, suco ou extrato de frutos juçara (*Euterpe edulis*); avaliar a composição fitoquímica dos frutos ou seus derivados (polpa, suco ou extrato) e ser publicado nos últimos cinco anos. Não houve restrição da língua escrita.

Os artigos que avaliaram métodos os quais objetivaram otimizar a extração de compostos dos frutos, estudos com ênfase em aspectos

botânicos e que avaliaram outras partes da palmeira, como sementes ou produtos obtidos das sementes foram excluídos.

Os títulos e resumos de todos os manuscritos foram revisados e quando houve dúvida acerca da temática abordada, o manuscrito foi lido por completo.

A pesquisa foi conduzida entre maio de 2016 e agosto de 2017. Vinte e cinco artigos foram selecionados como elegíveis para este estudo, os quais abordaram propriedades antioxidante, efeito sobre parâmetros metabólicos, anti-inflamatório, entre outros efeitos.

3.3 ETAPA 2 e 3: ENSAIO CLÍNICOS

3.3.1 Caracterização dos sucos de juçara e açaí

Os frutos juçara (*Euterpe edulis*) e do açazeiro (*Euterpe oleracea*), para os os dois ensaios clínicos realizados, foram processados e fornecidos por empresa especializada localizada em Jaraguá do Sul, Santa Catarina. Amostras de 5 L por embalagem foram disponibilizadas e posteriormente porcionadas nas quantidades administradas no estudo. Os frutos juçara utilizados no preparo do suco foram colhidos em Garuva, no estado de Santa Catarina, em novembro de 2015 enquanto os fruros para o preparo do açaí foram provenientes do Pará, colhidos em meados de março de 2015.

As amostras de suco de juçara foram utilizadas nos dois ensaios clínicos realizados, Etapas 2 e 3 da tese, em momentos distintos e independentes. Já o suco de açaí foi utilizado somente na Etapa 3 da tese, referente ao 2º ensaio clínico descrito.

Os parâmetros químicos foram determinados seguindo os métodos recomendados pela Associação de Química Analítica Oficial (AOAC, 2005): o teor de umidade (925,09) foi determinado secando a amostra em estufa a 105 ° C até atingir peso constante; o teor de cinzas foi avaliado por por incineração em mufla (940,26); o teor de proteína (920,87) foi calculado a partir do teor de nitrogênio total determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando um fator de conversão de 6,25 e os lípidios totais (920,85) foram determinados de acordo com o método de extração de Soxhlet.

De acordo com a análise de sólidos totais, a amostra de juçara utilizada apresentou o valor de 6,64 g/100 g, valor inferior à juçara fina ou popular (8 a 11% de sólidos totais), de acordo com Projeto de Instrução Normativa, a ser publicado, para padrões de identidade e qualidade para frutos da *Euterpe edulis* (BRASIL, 2016), tendo aspecto líquido. As

amostras de açai (*Euterpe oleracea*) apresentaram o teor de sólidos totais de 6,68 g/100 g, valor inferior à classificação de açai fino ou popular, detendo aparência líquida (BRASIL, 2000).

3.3.2 Preparo das amostras

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.

O preparo dos extratos para quantificação dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foi realizado de acordo com Rufino et al. (2010). Neste preparo, 2 mL de amostra de juçara e açai foram extraídos com 10 mL de metanol em ultrassom a 25 ± 2 °C por 60 minutos e centrifugados a 5300/g por 15 minutos (Fanen 280R, São Paulo, Brasil). Após esta etapa, foi coletado o sobrenadante e o resíduo centrifugado foi extraído novamente com 5 mL de acetona 70:30 (v/v) nas mesmas condições citadas anteriormente. O novo sobrenadante extraído foi adicionado ao sobrenadante da primeira extração e o volume foi aferido para 25 mL em balão volumétrico.

A extração das antocianinas foi realizada por maceração a frio com base na metodologia descrita por Borges et al. (2011), na qual 4 mL de cada amostra foram extraídos com 50 mL de metanol 1,5 M HCl em frasco âmbar a temperatura de 5 ± 2 °C por 24 h. Os extratos foram filtrados em papel filtro (Whatman n° 1) e o conteúdo de antocianinas no extrato imediatamente avaliados.

3.3.3 Determinação dos fenólicos totais

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado com o reativo de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Uma alíquota de 100 µL de cada suco de amostra adicionada em 4 mL de água deionizada, seguida pela adição de 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de solução de carbonato de sódio a 20% m/v. O volume foi ajustado para 10 mL com água deionizada sendo homogeneizado em seguida. A absorbância foi lida em 765 nm utilizando espectrofotômetro (Spectro Vision, modelo SB1810-S - Pequim, China). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico 100 g⁻¹.

3.3.4 Determinação de antocianinas monoméricas totais

A quantificação das antocianinas monoméricas totais (AMT), nas amostras de sucos analisadas, foi avaliada pelo método diferencial de pH de acordo com Giusti e Wrolstad (2001). Alíquotas de juçara (0,2 mL) foram adicionadas em 1,8 mL de solução tampão de cloreto de potássio (0,025 M, pH 1,0) e acetato de sódio (0,4 M; pH 4,5), separadamente, com absorbância medida após 10 min na ausência de luz em comprimentos de onda de 515 e 700 nm. As AMT foram calculadas utilizando a equação:

$$AMT = \frac{A \times PM \times FD \times 100}{\epsilon \times C},$$

Onde A = absorbância ($A_{515} - A_{700}$) pH 1.0 - ($A_{515} - A_{700}$) pH 4,5; PM = peso molecular da cianidina-3-*O*-glicosídeo (449,2 g mol⁻¹); FD = fator de diluição; ϵ = absorvidade molar da cianidina-3-*O*-glicosídeo (26900 mol L⁻¹); e C = concentração (mg mL⁻¹). As AMT foi expresso em mg de equivalentes de cianidina-3-*O*-glicosídeo 100 g⁻¹.

3.3.5 Avaliação antioxidante

3.3.5.1 Avaliação da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e FRAP

A determinação da atividade antioxidante pela neutralização do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi baseada no método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de trabalho foi obtida pela diluição da solução de DPPH com metanol para obter absorbância em torno de 0,800 (\pm 0,02) a 515 nm utilizando espectrofotômetro Spectro Vision (SB 1810-60 S - Pequim, China). Alíquota de 2,9 mL desta solução foi misturada com 100 μ L dos extratos em diferentes concentrações. A solução foi agitada em tubos e incubada no escuro por 30 min em temperatura ambiente. A absorbância foi medida em 515 nm. A inibição dos radicais livres de DPPH, em termos percentuais (I%), foi calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{absorbância da amostra } t=30\text{min}}{\text{absorbância do controle } t=0\text{min}} \times 100$$

Curva padrão foi utilizada e os resultados foram expressos em mg capacidade antioxidante equivalente a ácido ascórbico 100 g⁻¹ de amostra.

A capacidade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP) foi avaliada por meio do método de Benzie e Strain (1996). Extratos diluídos em alíquotas de 200 μL foram adicionados em 200 μL de cloreto férrico (FeCl_3), homogeneizados e acondicionados em banho de água por 30 minutos a 37 ± 2 °C. Em seguida, solução de TPTZ (2,4,6-tripirydyls-triazine) (3,6 mL) foi adicionada aos tubos e novamente homogeneizada. Após 10 minutos de repouso a absorbância foi mensurada em 620 nm. Os resultados foram expressos em μmol de capacidade antioxidante equivalente em ácido ascórbico e sulfato ferroso 100 g^{-1} .

3.3.5.2 Preparo das amostras para análises em CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

As análises em CLAE foram realizadas no laboratório de Eletroforese Capilar no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina sob supervisão do prof. Gustavo Amadeu Mücke.

O suco de juçara e de açaí foram diluídos em água ultrapura (1:2 m/m) e centrifugados a 8000 g por 10 min a 4°C, sendo o sobrenadante utilizado para realizar as análises de caracterização do suco. As antocianinas foram identificadas e quantificadas pelo sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu LC-20AT, Kyoto, Japão) equipado com um detector de arranjo de diodos (DAD; Shimadzu, SPD-M20A, Kyoto, Japão), utilizando coluna de fase reserva C18 (150 mm x 4,6 mm DI) com tamanho de partícula de 5 μm (Supelco, Nucleosil, Bellefonte, PA, EUA). O gradiente usado foi binário com fase móvel alternada A (metanol) e B (3% de ácido fórmico em água) com um fluxo programado de 1,0 mL/min. O volume de injeção foi de 20 μL para todas as amostras e a detecção foi realizada em 520 nm.

Os picos identificados foram confirmados usando padrões autênticos de cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-3-*O*-rutinosídeo (Extrasynthese, Genay, Lyon, França), dissolvido em metanol acidificado (0,1% HCl). A quantificação foi realizada utilizando curvas de calibração.

3.3.5.3 Condições para as análises em Cromatografia Líquida acoplada ao Espectômetro de Massas com Ionização do tipo Elecospray (LC-ESI-MS/MS)

O conteúdo de compostos fenólicos para as amostras de juçara e açaí foi determinado por LC-ESI-MS/MS em um sistema de CLAE

(Agilent Technologies - Waldbronn, Alemanha) acoplado em um espectômetro de massas íon linear (QTRAP® 3200 (Applied Biosystems / MDS Sciex, Concord, Canadá) equipado com uma fonte TurboIonSpray™ (electrospray-ESI). A separação foi realizada com uma coluna Synergi (4,6 µm de tamanho de partícula, 150 mm, 2,0 mm). O gradiente de eluição foi composto pela fase móvel A (metanol 95% em água) e fase B (ácido fórmico 0,1% em água), seguindo: 0-5 min, 10% de A; 5-7 min, 90% A; 7-10 min, e 90% de A; 10-17 min, 10% de A. A taxa de fluxo foi de 250 µL/min, as análises foram realizadas no modo iônico negativo e a agulha capilar foi mantida em 4500 V. Os parâmetros MS / MS foram gás de cortina, 10 psi; temperatura, 400 °C; gás 2,45 psi; e dissociação ativada por colisão (CAD), médio. Os teores de compostos fenólicos foram expressos em mg por 100 g de matéria seca. A quantificação foi baseada em curvas de calibração usando padrões fenólicos ultra-puros e as concentrações foram expressas em µmol e nmol.

3.3.6 Ensaio Clínico

3.3.6.1 Participantes

As amostras dos ensaios clínicos foram compostas por indivíduos saudáveis, de acordo com os parâmetros de monitoramento avaliados, conforme outros estudos com populações saudáveis (CARDOSO et al., 2015a; KUNTZ et al., 2014). A amostra de indivíduos foi recrutada a partir de alunos matriculados nos cursos de graduação e pós-graduação da Universidade Federal de Santa Catarina, de forma intencional.

Em estudos prévios que avaliaram o efeito do consumo único da polpa de açaí sobre a atividade antioxidante plasmática humana (JENSEN et al., 2008; MERTENS-TALCOTT et al., 2008) e a farmacocinética das antocianinas a partir da ingestão de suco e polpa de açaí (MERTENS-TALCOTT et al., 2008), o tamanho da amostra variou entre 12 e 14 indivíduos. Estudos que avaliaram a absorção de antocianinas em indivíduos saudáveis, a partir da ingestão de frutos com altas concentrações destes compostos também realizaram estudo com 10 e 13 indivíduos (WICZKOWSKI et al, 2010; SEYMOR et al, 2014; McKAY et al, 2015).

Para o primeiro ensaio clínico realizado, Etapa 2 da tese, dez voluntários, seis mulheres e quatro homens, com idade entre 23 e 30 anos (média de $26,11 \pm 2,62$ anos) e índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 29,9 kg / m² participaram do estudo.

No segundo clínico realizado, Etapa 3 da tese, onze indivíduos, seis mulheres e cinco homens, com idade entre 25 e 30 anos (média $27 \pm 2,83$ para mulheres e $25 \pm 2,16$ para homens) e IMC entre 20,67 ($\pm 1,23$) e 24,50 kg / m² ($\pm 1,50$), respectivamente, completaram o protocolo de estudo.

Os parâmetros selecionados para inclusão de participantes saudáveis foram fundamentados em estudos que avaliaram o efeito antioxidante de frutos ricos em antocianinas por indivíduos saudáveis (KUNTZ et al, 2014; KARDUM et al, 2014; CARDOSO et al., 2015a). Para ambos os ensaios clínicos, os indivíduos atendiam aos seguintes critérios de inclusão: não fumar, não serem usuários de bebidas alcoólicas, não utilizar suplementos vitamínicos e não serem portadores de quaisquer doenças (cardiovasculares, endócrinas, gastrointestinais, renais ou hepáticas), processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos três meses antes do estudo, além de não possuírem diagnóstico nutricional de desnutrição ou obesidade (IMC > 30 kg/m²). Esses critérios foram avaliados por questionário de história clínica elaborado pelo grupo de pesquisa (Apêndice 1).

Os participantes foram convidados a participar do estudo sem qualquer constrangimento e receberão as explicações necessárias para o entendimento do protocolo experimental utilizado, bem como riscos e benefícios. Os participantes que aceitaram participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). As informações fornecidas pelos participantes foram sigilosas e utilizadas somente para este trabalho.

O protocolo deste estudo segue os preceitos estabelecidos na Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466 de 2012 (BRASIL, 2013) e está englobado em proposta com objetivos mais amplos intitulada: “Efeito do consumo agudo e prolongado do fruto juçara (*euterpe edulis*) e do açaí (*euterpe oleracea*) sobre a capacidade antioxidante, biomarcadores de danos oxidativos e parâmetros metabólicos em indivíduos saudáveis” e foi aprovado pelo Comitê de Ética com pesquisas em seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o número 33131414.2.0000.0121.

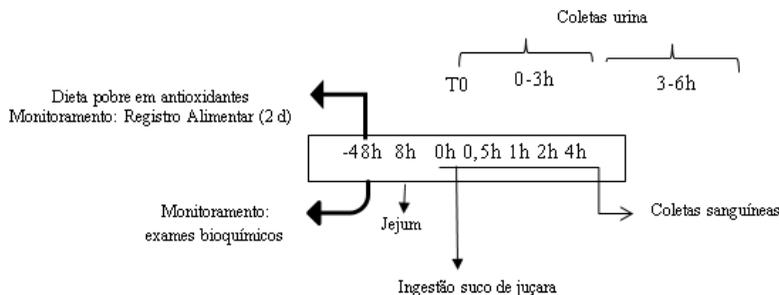
3.3.6.2 Desenhos do estudo: ensaio clínico

Nosso grupo de pesquisa evidenciou efeito antioxidante da ingestão aguda do suco de juçara em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015b). Na Etapa 2 da presente tese foi avaliada a absorção e excreção dos principais compostos bioativos do suco de juçara em plasma e urina de dez indivíduos saudáveis após ingestão aguda do suco, além do

potencial antioxidante sérico e eritrócitário dos mesmos indivíduos. De acordo com artigos de revisão, as antocianinas parecem ser absorvidas e eliminadas do organismo rapidamente, atingindo concentrações máximas consideradas baixas no plasma (POJER et al., 2013; FERNANDES et al., 2014). Segundo Kay (2006), a concentração plasmática máxima de antocianinas alcançada no plasma ocorre 0,5 a 4h após seu consumo.

Nesta etapa, o jejum recomendado foi de 8h, sendo realizadas as coletas sanguíneas por profissional habilitado, antes da ingestão de 400 mL de suco de juçara (tempo zero – T0) e após 0,5h (T1); 1h (T2); 2h (T3) e 4h (T4). A urina foi coleta anteriormente à ingestão e nos intervalos de 0-3h e 3-6h. Após as coletas os pacientes foram acomodados no Laboratório de Comportamento Alimentar (UFSC) para realização de um lanche. O delineamento desta etapa está descrito na figura 5.

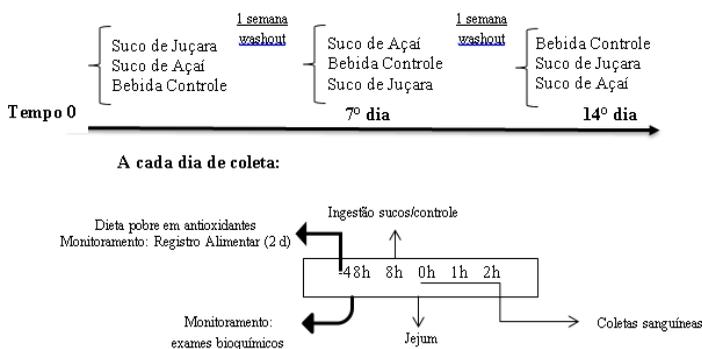
Figura 5: Desenho do estudo referente à avaliação da absorção e excreção dos compostos bioativos do suco de juçara, após ingestão única



Na Etapa 3 da presente tese, o efeito do consumo único do suco de juçara foi comparado ao suco de açaí e controle (água) através de um ensaio clínico randomizado, do tipo *cross-over* e os desfechos avaliados foram biomarcadores de estresse oxidativo. O estudo envolveu três fases, com a administração do suco de juçara, suco de açaí e controle, havendo intervalo (“washout”) de uma semana entre cada intervenção administrada. Os participantes foram alocados de forma aleatória entre os

três grupos, Grupo Açai (GA), Grupo Juçara (GJ) e Grupo Controle (GC), a cada etapa da investigação. A quantidade administrada de cada bebida foi de 400 mL. O jejum foi de 8h, sendo realizadas as coletas sanguíneas antes da ingestão, chamada de tempo 0 (T0), e após 1h (T1) e 2h (T2). Após as coletas sanguíneas os pacientes foram acomodados no Laboratório de Comportamento Alimentar (UFSC) para realização de um lanche. O delineamento desta etapa está descrito na figura 6.

Figura 6: Desenho do estudo referente à ingestão única do suco de juçara em comparação ao suco de açai e bebida controle.



Para padronizar a ingestão e limitar, em ambos ensaios clínicos realizados, a ingestão de antioxidantes durante o estudo, os participantes foram orientados verbalmente e por escrito a absterem-se de alimentos ricos em antioxidantes no período de 48h prévios à administração do suco. Os participantes receberam uma lista alimentos divididos em três categorias: alimentos permitidos, alimentos permitidos com restrições e alimentos não permitidos (Apêndice 2) (KUNTZ et al., 2014). Os participantes foram ainda instruídos a preencherem dois registros alimentares referentes às 48h precedentes a cada intervenção, para avaliar o seguimento das orientações fornecidas (Apêndice 3). Todos os participantes também foram orientados a não praticarem exercício físico intenso e não se privarem de noites de sono nestas 48h antecedentes às coletas sanguíneas.

Exames laboratoriais foram avaliados para garantia de participantes com o estado de saúde adequado ao estudo. Os indivíduos que tiverem algum dos parâmetros avaliados fora dos limites de referência foram excluídos da amostra.

A função hepática foi avaliada pelos marcadores enzimáticos aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e fosfatase alcalina, enquanto a função renal foi avaliada pelos parâmetros de ureia e creatinina séricas. 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).

A concentração sérica de ácido úrico foi determinada para monitoramento do estado de saúde dos participantes e como marcador de atividade antioxidante sérica. O método de Trinder foi utilizado para esta medida sendo 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.

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 (do *inglês high density lipoprotein*)-colesterol foi determinado por método homogêneo (Dade-Behring, Alemanha). O LDL-c foi calculado pela equação de Friedewald [LDL-c = CT - (HDL-c + 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).

3.3.6.3 Avaliação Antropométrica e Composição Corporal

A avaliação antropométrica foi realizada no Laboratório de Antropometria da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenado pela professora Dr. Yara Moreno, em ambos os ensaios clínicos.

Para a aferição do peso corporal foi utilizada balança digital Marte (Marte, Minas Gerais, Brasil) e a estatura foi aferida em estadiômetro (AlturaExata). As medidas de peso e estatura foram utilizadas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC), onde o peso corporal, expresso em quilogramas (kg), é dividido pela estatura ao quadrado em metros (OMS, 2000).

A composição corporal foi avaliada somente no ensaio clínico referente à absorção e excreção de antocianinas e ácidos fenólicos. A

avaliação ocorreu por meio da absorptometria radiológica de dupla energia (do inglês *dual-energy absorptiometry* - DXA) com software associado (DXA Lunar Prodigy), havendo rastreamento do corpo para descrição das medidas absolutas e percentuais da composição de gordura, massa magra e mineral óssea, relatados em quilogramas.

3.3.6.4 Tratamento das amostras sanguíneas

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

Amostras sanguíneas foram coletadas por meio de punção da veia intermédia do antebraço, com sistema a vácuo, por um profissional da área da enfermagem (Vacuntainer-BD-São Paulo/Brasil) em tubos com e sem a presença do anticoagulante ácido etileno diaminoacético (EDTA). As coletas sanguíneas ocorreram no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago – UFSC e Laboratório de Comportamento Alimentar.

Para obtenção do soro e plasma o sangue foi centrifugado a 1000 x g por 10 min. Para a determinação das enzimas antioxidantes, GPx, SOD e CAT, foi preparado 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 microtubos 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. As hemácias foram utilizadas após três lavagens com solução fisiológica (com centrifugação a 700 x g, 10 minutos a 4°C, a cada lavagem). Após a última centrifugação, o sobrenadante foi desprezado, sendo complementado mesmo volume de solução fisiológica. Por fim, foi adicionado 1 mL de Solução Hemolisante à 100 µL destas células (hemácias e solução fisiológica). As amostras foram alocadas em freezer - 80 °C até momento de sua utilização.

3.3.6.5 Avaliação do estado antioxidante e oxidante sanguíneo

O estado antioxidante total (TAC - do inglês *total antioxidant status*) foi medido de acordo com o método automatizado de Erel (2004), o qual avalia a capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em neutralizar o cátion ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenz-thiazoline-6-

sulfonic) diammonium salt), originando composto cromóforo com absorção máxima em 660 nm. Os resultados foram expressos em milimoles de equivalente de Trolox/L (mmol TE/L).

O estado oxidativo total (TOS – do inglês *total oxidation status*) foi avaliado de acordo com Erel (2005), que mede a oxidação do complexo íon ferroso-íon-dianisidina em íon férrico pelos oxidantes da amostra avaliada. O íon férrico forma um complexo colorido com o alaranjado de xilenol em meio ácido. A intensidade da cor é proporcional ao número total de moléculas presentes, e pode ser lida em espectrofotômetro. O ensaio é calibrado com peróxido de hidrogênio e os resultados são expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L com leitura em 560 nm (adaptado de EREL, 2005).

TAC e TOS tiveram as leituras de absorbância realizadas em leitor de microplacas (Epoch-Biotek Instruments, Winooski, Vermont, EUA), utilizando o software GEN5®.

As enzimas antioxidantes foram avaliadas em amostras de hemácias hemolisadas. A CAT catalisa a conversão de duas moléculas de H_2O_2 em oxigênio molecular e duas moléculas de água. O método é baseado na reação das enzimas com metanol na presença de H_2O_2 . Nesta reação é produzido formaldeído, o qual pode ser medido colorimetricamente com o composto Purpald em 240 nm (JOHANSSON; BORG, 1988).

A enzima SOD é responsável pela dismutação do $\text{O}_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 e oxigênio molecular. Esta enzima foi medida por meio de kit (Sigma Aldrich), usando sal de tetrazólio e solução de trabalho, a qual produz composto colorido solúvel em água. A taxa de redução do $\text{O}_2^{\cdot-}$ é linearmente relacionada à ação da xantina oxidase e é inibida pela SOD. Portanto, 50% de inibição da atividade da SOD pode ser determinada por composto colorimétrico com absorbância a 450 nm.

A GPx atua sobre vários substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutatona reduzida (GSH) para formar glutatona oxidada (GSSG) e o produto de redução do hidroperóxido. Fisiologicamente a GPx atua acoplada à enzima glutatona redutase (GR) que, por sua vez, catalisa a redução de GSSG, usando Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (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 ação da catalase (WENDEL, 1981).

Os seguintes reagentes foram utilizados: 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, Cianeto de potássio

(KCN) 9 mM. Por fim, 5 μ L de amostra foram adicionados e a leitura foi feita imediatamente em leitor de placas no analisador ELISA, conforme programação já previamente configurada, a 340 nm. As enzimas antioxidantes analisadas foram expressas em unidade / mg de hemoglobina (U/mg Hb).

As dosagens de hemoglobina foram realizadas por kit comercial (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), o qual consiste na adição de 2,5 mL de reagente de coloração em alíquota de 10 μ L de sangue total, sendo as leituras realizadas após 5 minutos em 540 nm.

3.3.6.6 Identificação dos metabólitos em plasma e urina

As análises de identificação e quantificação dos metabólitos em plasma e urina dos compostos fenólicos presentes no suco de juçara foram realizadas somente na Etapa 2 da tese. Esta etapa foi realizada na Universidade de São Paulo, no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos, sob a supervisão da prof. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto.

A extração de compostos fenólicos foi realizada utilizando placas para realização da extração de fase sólida (Weluição Waters OASIS HLB - Milford, MA), as quais foram pré-condicionadas com 250 μ L de metanol e 250 μ L de ácido acético a 0,2%. Após a coleta das amostras biológicas, alíquota de plasma foi diluída com 1,5 mL de ácido oxálico (10 mM) e aplicada na coluna de C18 (0,3 g de LC-C18 Supelclean, Supelco, EUA), previamente condicionada com metanol e ácido oxálico (10 mM). Posteriormente a coluna foi lavada com ácido oxálico (10 mM) e eluída com metanol acidificado com 5% de TFA. O eluato foi rotaevaporado até *secura* à 40° C. O resíduo foi ressuscendido com metanol acidificado com 5% de ácido acético e filtrado com membrana de 0,43 μ m tetrafluoroetileno (Millipore, Bedford, MA). Amostras de urina foram acidificadas com ácido trifluoracético 0,2 %.

Alíquotas das amostras acidificadas foram aplicadas nas colunas nas placas e os compostos fenólicos foram eluídos usando metanol acidificado com 0,2% de ácido acético. O eluato foi seco por CentriVap Benchtop Vacuum Concentrators (Labconco, Kansas City, MO, EUA) e reconstituído com metanol acidificado com ácido acético a 5% e por fim filtrado com filtro PTEF (politetrafluoretileno) de 0,43 μ m (Millipore, Bedford, MA, EUA).

3.3.6.7 Análise em CLAE

Os metabólitos foram quantificados utilizando cromatógrafo líquido 1260 Infinity Quaternary LC System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), com bomba quaternária e auto-injetor acoplado DAD (do inglês *Diode Array Detector*). A coluna utilizada foi 5 Prodigy ODS3 (250 x 4,60 mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido) com uma taxa de fluxo de 1 mL/min e temperatura da coluna a 25 °C. A fase foi constituída de dois solventes: (A) 0,5% de ácido fórmico em água e (B) 0,5% de ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente utilizado foi de 10% (B) no início, 10% aos 5 min, 20% aos 15 min, 25% aos 25 min, 35% aos 33 min, 50% aos 38 min, 90% aos 43-44 min e 10% em 45 min. Antocianinas e outros compostos fenólicos foram detectados monitorando a eluição a 525 e 270 nm, respectivamente. A quantificação foi baseada em curvas de calibração usando os padrões comerciais PCA, VA, ácido isovanílico (iVA), HA, ácido hidroxibenzóico (HBA) e ácido hidroxifenilacético (HPA). A quantificação foi baseada em padrões de curvas de calibração; as concentrações foram expressas em mmol/L.g⁻¹ µmol/L.g⁻¹ de creatinina para amostras de urina e os valores de eliminação foram expressos em µmol e nmol.

3.3.6.8 Análise em LC-ESI-MS/MS

Os metabólitos exógenos foram identificados por LC-ESI-MS/MS usando cromatógrafo líquido (Shimadzu, Japão) acoplado a espectrômetro de massa Esquires-LC (Bruker Daltonics, Billerica, MA) com uma interface de ionização por electrospray (ESI). A condição de cromatografia foi a mesma usada para quantificação por HPLC-DAD. Depois de passar pelo detector (DAD), o fluxo foi alterado para 0,2 mL/min para injeção das amostras no espectrômetro de massa. ESI foi deixado em modo positivo para antocianinas e modo negativo para os outros compostos. A condição do espectrômetro de massas foi de energia de colisão 4500 e 4000 V para os modos positivo e negativo, respectivamente, e a temperatura capilar a 275 °C. A varredura de m/z foi de 100 a 1500. Os compostos foram identificados de acordo com a comparação com tempos de retenção de padrões autênticos, quando possível, assim como pela similaridade do espectro de absorção, perfil de fragmentação e comparação com a literatura.

3.3.7 Análise dos dados

Na etapa dois da tese, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP) ou erro padrão (EP). Mudanças relativas nos biomarcadores de estresse oxidativo utilizaram dados pós-consumo em comparação com os valores basais a fim de determinar a diferença entre os parâmetros inicial e final ao longo das 4 h. A área sob a curva (AUC) foi calculada usando a Regra Trapezoidal. O teste de Kruskal-Wallis foi realizado para as distribuições não paramétricas. As comparações entre os valores intragrupos foram avaliadas pelo teste t ou Wilcoxon signed rank test. Os dados foram analisados na versão Stata versão 11.0 para Windows (Stata Corporation, College Station, TX, EUA), considerando-se um nível de significância inferior a 5% ($p < 0,05$).

Para a etapa três da presente tese, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP) ou erro padrão (EP). Mudanças relativas nos biomarcadores de estresse oxidativo utilizaram dados pós-consumo em comparação com os valores basais a fim de determinar a diferença entre os parâmetros inicial e final ao longo das 2 h. Análise de variância para medidas repetidas foram realizadas. Já as comparações intragrupos foram avaliadas pelo teste t ou Wilcoxon signed rank test. Os dados foram analisados na versão Stata versão 11.0 para Windows (Stata Corporation, College Station, TX, EUA), considerando-se um nível de significância inferior a 5% ($p < 0,05$).

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS

Este capítulo apresenta o artigo sobre de revisão de literatura referente à caracterização fitoquímica e aos efeitos biológicos exercidos pelos frutos juçara e seus subprodutos (extrato liofilizado, polpa ou suco), no formato de revisão narrativa de literatura, sendo aceito para publicação no periódico internacional *Planta Medica* (CARDOSO et al. 2018).

Ainda, este capítulo inclui o manuscrito 2, artigo original da tese, o qual avaliou a absorção e excreção de ácidos fenólicos após a ingestão do suco de juçara, submetido em periódico internacional. Apresenta-se também o manuscrito 3, com resultados acerca da caracterização de compostos fenólicos e comparação da atividade antioxidante após ingestão única dos sucos comerciais de juçara e açai, por indivíduos saudáveis.

4.1 MANUSCRITO 1: REVISÃO DE LITERATURA

Artigo publicado em:

CARDOSO, A. L.; De LIZ, S.; RIEGER, D. K.; FARAH, A. C. A.; VIEIRA, F. G. K.; De ASSIS, M. A. A.; Di PIETRO, P. F. An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Planta Medica**, v. 84, p. 487-499, 2018.

Atividades biológicas dos frutos da palmeira *Euterpe edulis* (Juçara): uma atualização

Alyne Lizane Cardoso ¹, Sheyla de Liz ¹, Debora Kurrler Rieger Venske ¹, Ana Carolina Aguiar Farah ², Francilene Gracieli Kunradi Vieira ¹, Maria Alice Altenburg de Assis ¹, Patricia Faria Di Pietro ^{1,*}

Afiliação

¹ Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

² Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

Correspondência

* Prof. Dr. Patricia Faria Di Pietro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina. Campus Universitário, Florianópolis/SC - Brazil. E-mail: patricia.di.pietro@ufsc.br Phone +55 (48) 3721-8014; Fax +55 (48) 3721-9542.

Palavras chaves: *Euterpe edulis*, Arecaceae, Juçara, Açai, Efeitos biológicos, Antioxidante

Abreviação:

ACN, antocianina; AIN, *American Institute of Nutrition* (Instituto Americano de Nutrição); CAT, catalase; DPPH, radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; ERO, espécies reativas de oxigênio; FRAP do inglês *Ferric Reducing Antioxidant Potential* (potencial antioxidante redutor Férrico); GPx, glutathione peroxidase; HDL-C, do inglês *high-density lipoprotein cholesterol* (lipoproteína de alta densidade); IL-6, interleucina 6; IL-1 β , interleucina 1 β ; LDL-C, do inglês *low-density lipoprotein cholesterol* (lipoproteína de baixa densidade); MCP-1 do inglês *monocyte chemoattractant protein 1* (proteína quimiotática de monócitos-1); DHNA, doença hepática gordurosa não alcoólica; NF-kB do inglês Nuclear Factor Kappa B (fator nuclear kappa B), fator nuclear kappa B; Nrf2, NF do inglês *erythroid 2--related factor 2* (fator 2 relacionado com eritroides nuclear); ORAC, do inglês *oxygen radical absorbance capacity* (capacidade de absorção do radical oxigênio); PPAR γ , do inglês Peroxisome proliferator-activated receptor γ (receptores ativado por proliferador de peroxissoma), RDA, do inglês Recommended Dietary Allowances (Ingestão Dietética Recomendada); sICAM-1 do inglês *soluble intercellular adhesion molecule-1* (molécula de adesão intercelular-1 solúvel); SOD, superóxido dismutase; sVCAM-1, do inglês *soluble vascular cell adhesion molecule-1* (molécula de adesão celular vascular-1); CT, colesterol total; TLR-4, do inglês Toll-like receptor 4 (receptor do tipo toll- 4); TNF- α , do inglês *tumor necrosis factor* (fator de necrose tumoral).

Resumo: A palmeira *Euterpe edulis*, conhecida como juçara, produz frutos esféricos e roxos, semelhantes aos das palmeiras *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, os quais são reconhecidos por originarem o açáí. O fruto juçara vem ganhando relevância no meio científico por sua interessante composição nutricional, rico em antioxidantes, e pelo seu modelo de produção sustentável. Atividades biológicas importantes têm sido associadas ao fruto juçara e seu uso na alimentação tornou-se uma importante alternativa nutricional, ambiental e econômica. O objetivo desta revisão é compilar dados científicos recentes sobre a caracterização fitoquímica e atividades biológicas dos frutos da *Euterpe edulis*. A revisão de literatura foi realizada nas bases de dados eletrônicas *Medline* e *Science Direct*. Os critérios de elegibilidade para os estudos foram: caracterizar os fitoquímicos presentes no fruto da palmeira *Euterpe edulis*, avaliar os efeitos biológicos *in vitro* ou *in vivo* com polpa, extrato, suco ou produto oriundos do fruto juçara. As investigações que utilizaram outras partes da planta (sementes), não avaliaram atividades biológicas ou testaram metodologias para extração de compostos foram excluídas. A partir dos estudos identificados, 25 foram elegíveis para este estudo. A relação dos benefícios à saúde associados ao fruto juçara parece ocorrer pela melhora da atividade antioxidante *in vivo*, os benefícios sobre os perfis lipídico e glicêmico e a modulação do estado inflamatório em estudos experimentais em animais.

Introdução

Estudos demonstram que o consumo de frutas pode promover efeitos protetores sobre o organismo, especialmente devido ao teor de compostos fenólicos encontrados nestes (CROWE et al., 2011; SPENCER; CROZIER, 2012; DEL RIO et al., 2013). Há um interesse crescente em frutas nativas e exóticas de países tropicais, particularmente pela composição nutricional destas com altos valores de antocianinas (ACN) (COSTA et al., 2013; HARASYM; OLEDZKI, 2014).

O açaí é proveniente da palmeira *Euterpe*, membro da família Arecaceae. As espécies mais populares de palmeiras que originam o açaí são *Euterpe oleracea Martius* e *Euterpe precatoria Martius* (YAMAGUCHI et al., 2015). Segundo Yamagichi et al. (2015) apenas estas duas espécies são comercialmente utilizadas para produção de açaí. No entanto, é possível que produtos obtidos a partir dos frutos juçara também sejam chamados de açaí para torná-los comercialmente relevantes, apesar de pertencerem a espécie diferente de palmeira (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013).

A espécie palmeira *Euterpe edulis Martius*, nativa da Mata Atlântica e popularmente conhecida como juçara (ou jussara) e açaí-do-sol, vem ganhando relevância na literatura científica nos últimos anos. A palmeira juçara produz fruto roxo esférico, com características sensoriais comparáveis às do açaí, mas com possível benefício superior nutricional (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2016). No entanto, a extração excessiva de palmito da palmeira juçara a direcionou para o risco de extinção. Por esse motivo, a exploração sustentável dessa espécie pode tornar o uso do fruto juçara na alimentação uma ótima alternativa nutricional, ambiental e econômica (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2016; DA SILVA et al., 2014).

Estudos sobre os efeitos biológicos da palmeira *Euterpe edulis* são recentes e parecem promissores com destaque para os efeitos antioxidante, antiinflamatório e cardioprotetor já demonstrados (DE CASTRO et al., 2014; CARDOSO et al., 2015a; CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015; OYAMA et al., 2016). Em 2016, os constituintes fitoquímicos e aspectos botânicos da palmeira *Euterpe edulis* foram compilados na revisão de Schulz et al. (2016).

De acordo com nosso conhecimento, a presente revisão é a primeira investigação que visa resumir a caracterização fitoquímica e, principalmente, as atividades biológicas com ênfase nos frutos de *Euterpe edulis*. Os frutos da palmeira *Euterpe edulis* originam uma polpa que

alguns pesquisadores consideram muito semelhante ao açaí, com composição nutricional interessante. Efeitos biológicos relacionados aos frutos juçara estão emergindo na literatura científica, sendo desta forma relevante reunir esses dados para contribuir com o caminho de pesquisas científicas futuras sobre estes frutos.

A pesquisa foi realizada nas bases de dados *on-line Medline* (via *PubMed*) e *Science Direct* (via *Scopus*). Os artigos selecionados para este estudo apresentaram os seguintes critérios de elegibilidade: não ter restrição de linguagem escrita, avaliar algum efeito de relevância biológica *in vitro*, *in vivo* em animais ou por ensaios clínicos, com administração de polpa, suco ou extrato da fruta juçara; avaliar a caracterização fitoquímica dos frutos juçara e ser publicado nos últimos cinco anos. Estudos que avaliaram a otimização de metodologias de extração de compostos presentes nos frutos, com ênfase em aspectos botânicos e que avaliaram outras partes da planta (sementes ou produtos de sementes) não foram considerados nesta revisão. Um fluxograma da seleção de estudos está apresentado como informação complementar.

A pesquisa foi conduzida entre maio de 2016 e agosto de 2017. Os títulos e resumos dos artigos foram revisados e, quando as informações não foram suficientes, o manuscrito completo foi acessado. Vinte e cinco artigos foram selecionados como elegíveis para este estudo, os quais abordaram propriedades antioxidante, efeito sobre parâmetros metabólicos, anti-inflamatório, entre outros efeitos.

Caracterização química

A composição química do fruto juçara foi demonstrada por diversos estudos. Ressalta-se que o fruto juçara deve passar por processamento para poder ser consumido devido a pequena proporção de polpa que apresenta. Após a seleção e lavagem, os frutos juçara são macerados e misturados com diferentes quantidades de água, onde a polpa (epicarpo e mesocarpo) é separada das sementes. Este processo resulta em um líquido cremoso, roxo escuro com sabor característico, comumente chamado de polpa (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014). A forma como a juçara é processada e a quantidade de água adicionada podem interferir na composição fitoquímica da polpa (BORGES et al., 2011).

A polpa ou bebida produzida a partir do fruto juçara possui importantes propriedades nutricionais para a alimentação humana, podendo ser considerada fonte de energia, fibras, antocianinas, minerais e ácidos graxos insaturados (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014).

A polpa de juçara apresenta alta densidade energética (0,8 kcal/mL), principalmente pela presença de lipídios (INADA et al., 2015). Os lipídios são os principais macronutrientes da polpa de juçara (BORGES et al., 2011; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015). Dependendo da região de crescimento das palmeiras e do ciclo de maturação dos frutos, o teor de lipídios pode apresentar uma grande variação, em torno de 18,5% a 44,1% (BORGES et al., 2011) ou de 7,1 a 22,1 g/100 g em base seca (SCHULZ et al., 2015). Em relação à distribuição de ácidos graxos, a polpa de juçara possui cerca de 30% de saturados, 35% de monoinsaturados e 35% de poli-insaturados, de acordo com a região de crescimento do estado de Santa Catarina (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015). Os ácidos graxos em maior quantidade são insaturados, representados por cerca de 50 a 70% da fração lipídica total, em base seca, sendo as proporções de ácido oleico e ácido linoleico em torno de 44% a 55% e 18% a 25%, respectivamente (BORGES et al., 2011). Schulz et al. (2015) também encontraram o ácido oleico como sendo o principal ácido graxo presente no fruto juçara em base seca, representados por cerca de 35 a 42% do total de ácidos graxos.

Minerais

Poucos estudos identificaram e quantificaram o teor de minerais nos frutos juçara. A maioria dos minerais é encontrada na polpa destes frutos (INADA et al., 2015).

Da Silva et al. (2013) demonstraram grande quantidade de magnésio em amostras de fruto juçara, 974,4 mg / 100 g (base seca). No entanto, outros estudos apresentaram quantidades inferiores para este mineral, 183 mg / 100 g (base seca) (SCHULZ et al., 2015), 98,0 mg / 100 g (base seca) (NOVELLO et al., 2015) e 47,4 mg / 100 g (base seca) (INADA et al., 2015).

Considerando a avaliação do cobre, os valores encontrados por Da Silva et al. (2013) e Novello et al. (2015) foram de 9930 µg/100g e 1110 µg/100g em base seca, respectivamente, sendo estes valores suficientes para atingir os valores de recomendação (*Recommended Dietary Allowances* - RDA) para indivíduos adultos (900 µg/dia) (IOM, 2001). Inada et al. (2015) apresentaram valor inferior, abaixo de 500 g/100 g (base seca).

Embora Da Silva et al. (2013) tenham evidenciado grande quantidade de zinco (27,1 mg/100 g em base seca) para os frutos juçara, outros estudos mostraram quantidades inferiores, como Schulz et al. (2015) com 2,8 mg/100 g (em base seca), Novello et al. (2015) com 2,0

mg/100 (em base seca) e Inada et al. (2015) com 0,9 mg/100 g (em base seca).

Estudos demonstraram quantidades interessantes de manganês por Da Silva et al. (2013) e Novello et al. (2015), 33,6 mg e 23,9 mg/100 g (ambos avaliados em base seca) respectivamente, enquanto Schulz et al. (2015) e Inada et al. (2015) apresentaram valores inferiores de 8,4 e 3,0 mg/100 g (em base seca), respectivamente. Apesar das diferenças apresentadas, todos os valores foram superiores aos valores de Ingestão Adequada (AI do inglês Adequate Intake) para homens (2,3 mg/dia) e mulheres (1,8 mg/dia) adultos (IOM, 2001).

O teor de ferro presente nos frutos juçara merecem destaque. Da Silva et al. (2013) denotaram quantidade muito maior desse mineral, 65,3 mg / 100 g (em base seca) em comparação com a quantidade apresentada por outros estudos, 7,2 mg (SCHULZ et al., 2015), 5,2 mg (NOVELLO et al., 2015) e 4,3 mg (INADA et al., 2015) em 100 g (em base seca). Com exceção do valor apresentado por Da Silva et al. (2013), que excede os valores da RDA (homens: 8 mg/d; mulheres: 18 mg/d) (IOM, 2001), em 100 g, os demais estudos demonstraram atingir quase a metade destas recomendações diárias. Apesar da quantidade de ferro encontrada nos frutos, suas frações bioacessíveis avaliadas *in vitro* parecem ser baixas, segundo Schulz et al. (2017), sendo este valor de bioacessibilidade de 0 a 29,5% com taxas crescentes de acordo com o avanço do amadurecimento dos frutos.

Outros nutrientes relevantes são potássio e cálcio. Grandes quantidades de potássio foram observadas por diversos estudos: 998,67 a 1.325,88 mg dependendo do estágio de maturação - 0 até 69 dias (SCHULZ et al., 2017), seguido por 1291,5 mg (SCHULZ et al., 2015), 1090,8 mg (DA SILVA et al., 2013), 892,2 mg (NOVELLO et al., 2015) e 419,1 mg (INADA et al., 2015), todos os valores em 100 g (base seca). Em relação ao cálcio, Da Silva et al. (2013) encontraram 1040,6 mg/100 g (base seca), demonstrando valores que excedem a RDA (homens e mulheres: 1000 mg/dia) (IOM, 2001), enquanto Schulz et al. (2015) mostraram aproximadamente metade do valor de RDA para este mineral, 596,7 mg/100 g (no 7º estágio de maturação, o qual corresponde ao 69º dia após os frutos surgirem nos cachos). Já o estudo de Schulz e colaboradores (2017) evidenciaram valores entre 327,59 - 672,20 mg/100 g (base seca), de acordo com o estágio de maturação, 0 a 69 dias, avaliados em sete etapas.

Novello et al. (2015) e Inada et al. (2015) encontraram valores muito menores para o mineral cálcio, 76,4 mg e 100,0 mg/100 g (base seca), respectivamente. Além disso, cálcio apresentou alta

bioacessibilidade (14,3% - 65,5%) em comparação com outros minerais avaliados em diferentes estágios de maturação (0 até 69 dias) (SCHULZ et al., 2017).

Considerando o fósforo, estudos mostraram grandes disparidades entre os valores encontrados, enquanto Da Silva et al. (2013) apresentou 1324,5 mg, Inada et al. (2015) e Novello et al. (2015) encontraram 41,2 e 26,7 mg/100 g (base seca), respectivamente. Para sódio 397,3 mg e 149,3 mg foram os maiores valores encontrados por Silva et al. (2013) e Novello et al. (2015) (NOVELLO et al., 2015) por 100 g (base seca), respectivamente, enquanto Inada et al. (2015) e Schulz et al. (2015) mostraram valores muito inferiores, 17,3 mg e 14,2 mg por 100 g (base seca), respectivamente.

Vitaminas

Segundo Rufino et al. (2010) a quantidade de vitamina C apresentada nos frutos juçara, comparada a outras frutas tropicais, pode ser considerada modesta em 100 g de matéria fresca. A variabilidade do teor de vitamina C se deve às características do solo, clima, práticas agrícolas e estágio de maturação, bem como processo de colheita, transporte, armazenamento e despulpamento. No entanto, o teor de ácido ascórbico na polpa de juçara é semelhante a outros frutos não cítricos, como amora e ameixa (4 mg a 11 mg/100 g) (INADA et al., 2015).

Em relação aos carotenoides, Rufino et al. (2010) encontraram a quantidade de 1900 µg/100g (em base fresca) em frutos juçara coletados em Santa Catarina. Em contrapartida, os valores de carotenoides totais encontrados por Silva et al. (2014) e Inada et al. (2015) (737 µg e 414 µg/100 g em base fresca, respectivamente) foram inferiores. De acordo com a classificação de fontes de carotenoides proposta por Britton e Khachik (2009) (por 100 g / base fresca): baixa: 0-100 µg; moderado: 100-500 µg; alta: 500-2000 µg e muito alta: > 2.000 µg), a polpa de juçara pode ser considerada uma fonte alta ou moderada de carotenoide.

Silva et al. (2014) mostraram um maior valor de equivalente de atividade de retinol (27,8 µg / 100 g fwb) em comparação ao estudo de Inada et al. (2015) (7 µg / 100 g dwb).

Novello et al. (2015) em estudo experimental evidenciaram a quantidade de β-caroteno, em extrato liofilizado de juçara, de 23,9 µg/kg de extrato, enquanto Inada et al. (2015) relataram 86 µg/100 g em base seca. Esta quantidade é maior que a quantidade de β-caroteno mostrada no extrato liofilizado de açai (*Euterpe oleracea*) por Schauss et al. (2006), em torno de 3 µg/100 g em base seca.

Compostos fenólicos

A palmeira juçara fornece frutos com alto valor nutricional, os quais contêm compostos bioativos, como antocianinas, outros flavonoides e ácidos fenólicos, comumente associados a potentes atividades biológicas (SCHULZ et al., 2016). A Tabela 1 resume as atividades biológicas avaliadas nos frutos da palmeira *Euterpe edulis*.

Silva et al. (2014) apresentaram grande teor de fenólicos solúveis, 4.087 mg/100 g (base seca), em polpa de frutos juçara maduros coletados no Sudeste do Brasil (São Paulo). Inada et al. (2015) encontraram menor teor de compostos fenólicos solúveis (1.695 mg/100g em base seca) consistindo em 95% do teor compostos fenólicos totais, enquanto compostos insolúveis compreenderam 5% em amostras de juçara produzidas por empresa especializada, com frutos da safra de 2012, do sudeste do Brasil (Rio de Janeiro). Bicudo et al. (2014) encontraram valores muito menores de compostos fenólicos solúveis e insolúveis (244 mg/100g em base seca). Neste estudo, os frutos também foram da safra de 2012 e classificados em três estádios de maturação, de acordo com a cor externa.

O perfil de ácidos fenólicos nos frutos juçara é constituído pelos ácidos gálico, protocatecúico, p-hidroxibenzóico, vanílico, clorogênico, cafeico, siríngico, p-cumárico, sinapínico e ferúlico (BORGES et al., 2013; BICUDO et al., 2014; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015). Inada et al. (2015) foram os primeiros a identificar os ácidos fenólicos m-cumárico, transcinâmico, 4-hidroxifenilacético e 3,4-dihidroxifenilacético na polpa dos frutos juçara.

A quantidade de ácidos fenólicos varia durante os estágios de maturação dos frutos. O principal ácido fenólico encontrado em todos os estágios de maturação dos frutos juçara foi o ácido protocatecúico (SCHULZ et al., 2015). Segundo alguns autores, o amadurecimento do fruto e sua localização geográfica podem interferir nos compostos fenólicos dos frutos da palmeira juçara (BORGES et al., 2011; BICUDO et al., 2014).

Os principais compostos fenólicos presentes na polpa de juçara são as antocianinas (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; BICUDO et al., 2014). Os subtipos de antocianinas encontradas em maior quantidade nos frutos juçara são a cianidin-3-*O*-rutinosídeo seguido pelo cianidina-3-*O*-glicosídeo (BORGES et al., 2011; BICUDO et al., 2014; INADA et al., 2015; DA SILVA et al., 2014; DE CASTRO et al., 2014; NOVELLO et al., 2015; GUERGOLETTTO et al., 2016). No entanto De Brito et al. (2007) identificaram quantidade maior de cianidina-3-glicosídeo (53%) em comparação a cianidina-3-rutinosídeo (46%).

Outros subtipos de antocianinas já identificados nas amostras de juçara foram: cianidina-3-sambunosídeo (DE BRITO et al.; 2007; CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015), pelargonidina-3-glicosídeo (DE BRITO et al., 2007; CARDOSO et al., 2015b), pelargonidina-3-rutinosídeo (DE BRITO et al., 2007; NOVELLO et al., 2015), peonidina-3-rutinosídeo (DA SILVA et al., 2014; CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015), peonidina-3-glicosídeo (BICUDO et al., 2014) e delfinidina-3-glicosídeo (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015).

Ainda, o estudo realizado por Peron et al. (2017) demonstrou que as antocianinas presentes nos frutos juçara se degradaram mais lentamente que àquelas presentes nas uvas (tipo Itália) após efeito da temperatura (50 e 90 °C). Compostos fenólicos foram encontrados nas amostras avaliadas mesmo após os tratamentos térmicos realizados, no entanto, a temperatura de 90°C diminuiu a atividade antioxidante dos extratos.

Entretanto, apesar desses resultados, ressalta-se que a ingestão de juçara ocorre em sua forma fresca, após o processamento dos frutos com adição de água.

Uma pesquisa recente investigou as principais antocianinas e compostos fenólicos não antocianinas em extratos de juçara, usando espectrometria de massa com cromatografia líquida de ultra-performance. Este estudo encontrou grandes quantidades de antocianinas, cerca de 26 mg/g em base seca, de um total de 31 mg de compostos fenólicos/g em base seca. A cianidina-3-*O*-rutinosídeo foi a antocianina mais abundante (73% do conteúdo total de compostos fenólicos). Outros compostos fenólicos encontrados ainda foram: cianidina-3-*O*-glicosídeo, pelargonidina-3-*O*-glicosídeo, quercetina, rutina, miricetina, kaempferol, kaempferol-3-*O*-rutinosídeo, luteolina, apigenina, catequina, ácido elágico e 4,5-dicafeoilquínico. Os autores consideraram os frutos juçara fonte promissora de polifenóis, principalmente antocianinas (VIEIRA et al., 2017).

As estruturas químicas das antocianinas conhecidas nos frutos juçara são apresentadas na Figura 1.

Vale ressaltar que a composição nutricional e o teor dos compostos bioativos dos frutos juçara podem sofrer variações, uma vez que são influenciados por diversos fatores como: seleção dos frutos, local da colheita dos frutos e diferenças nas condições de crescimento das palmeiras como a altitude, incidência de luz solar e estágio de maturação dos frutos (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; DA SILVA et al., 2013; SCHULZ et al., 2015).

Atividade antioxidante

O fruto juçara é considerado rico em compostos fenólicos, sendo seu efeito antioxidante o mais descrito na literatura científica. A capacidade do fruto juçara em estabilizar espécies reativas vem sendo demonstrada por diversos estudos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014), 15, SCHULZ et al., 2015).

A avaliação da atividade antioxidante pela desativação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (BORGES et al., 2011; BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; CARDOSO et al., 2015b; SCHULZ et al., 2015; RUFINO et al., 2010; VIEIRA et al., 2013) e o potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) (BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015b; SCULZ et al., 2015; RUFINO et al., 2010; VIEIRA et al., 2013) têm sido os marcadores mais estudados, considerando os frutos juçara. A capacidade antioxidante pelo radical oxigênio (ORAC) também já foi utilizada (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; INADA et al., 2015).

A capacidade antioxidante avaliada pelos valores de FRAP são variadas, já sendo demonstrados valores de 1.158,0 μmol de equivalente Trolox/100 g em base seca (BORGES et al., 2013) e 2.155 μmol equivalente Trolox/100 g em base seca (CARDOSO et al., 2015a).

Considerando o marcador DPPH, alguns estudos demonstraram grandes diferenças. Bicudo, Ribani e Beta (2014) evidenciaram concentração de 745,3 μmol de equivalente Trolox /g em base seca) enquanto nosso grupo de pesquisa apresentou valor de 2802 μmol de equivalente Trolox / g em base seca (CARDOSO et al., 2015a). Os valores de DPPH nas amostras de juçara foram superiores aos valores encontrados para o açaí (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria* - 133,4 e 320,3 μmol de equivalente Trolox/g em base seca respectivamente) (KANG et al., 2012).

Os valores de ORAC na polpa de juçara variaram entre 1.088,10 - 2.071,55 μmol equivalente Trolox/g em base seca, em estudo realizado por Bicudo et al. (2014) enquanto os valores ORAC relatados por Inada et al. (2015) foram intermediários (1.544 μmol equivalente Trolox/g em base seca). Apesar de ambos os estudos considerarem amostras liofilizadas, as amostras de Bicudo et al (2014) foram processadas pelos pesquisadores antes das análises com frutos do sul do Brasil, enquanto os frutos utilizados por Inada et al (2015) foram provenientes do sudeste do Brasil, sendo processados por empresa especializada. Os valores de capacidade antioxidante do fruto juçara entre os estudos sugerem alta capacidade antioxidante para estes frutos. Entretanto, diferenças em

relação aos resultados entre as investigações podem ser atribuídas ao período de crescimento dos frutos, estação do ano, localização geográfica, variação do cultivar, métodos de extração e processamento das amostras utilizados, diferenças nas unidades de análise e padrões espectrofotométricos empregados, o que dificulta comparação direta entre os estudos.

Apesar do potencial efeito antioxidante já bem demonstrado dos frutos juçara *in vitro*, poucos ensaios clínicos avaliaram biomarcadores de estresse oxidativo *in vivo*. Os compostos bioativos presentes nos *berries* exercem importante relação com o estresse oxidativo atuando como estabilizadores de radicais livres. O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre a produção celular de espécies reativas e a capacidade antioxidante de neutralizar essas lesões (LOWE, 2014). A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) está relacionada a danos celulares, necrose e apoptose celular devido à oxidação de proteínas, lipídios e DNA (HALLIWELL, 2011).

Um estudo recente avaliou o efeito de bioprodutos dos frutos da *Euterpe edulis* (polpa liofilizada, polpa liofilizada desengordurada e óleo) na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) induzida por dieta rica em gordura durante quatro semanas em ratos. Os animais foram divididos em: dieta padrão, dieta rica em gordura ou combinada com óleo, polpa liofilizada ou polpa liofilizada desengordurada. Os grupos que receberam polpa (desengordurada ou não) atenuaram a esteatose e a peroxidação lipídica nos tecidos, enquanto o grupo que recebeu o óleo não apresentou o mesmo efeito. O produto mais promissor pareceu ser a polpa liofilizada desengordurada, possivelmente devido ao baixo conteúdo lipídico e altas concentrações de antocianinas e compostos fenólicos (FREITAS et al., 2016). Lipídios são alvos suscetíveis de oxidação devido a sua estrutura molecular e a peroxidação destas moléculas é considerada marcador de dano lipídico (DEL BO et al., 2015). Além disso, as antocianinas são consideradas potenciais antioxidantes que atuam na atenuação da peroxidação lipídica por meio da doação de elétrons ou do átomo de hidrogênio do seu radical hidroxila para as espécies reativas (MOTOHASHI; SAKAGAMI, 2009).

Uma investigação avaliou a combinação de polpa de juçara liofilizada adicionada a dieta ou em combinação com treinamento de exercício aeróbico de intensidade moderada sobre biomarcadores de estresse oxidativo hepático e parâmetros inflamatórios em camundongos ApoE -/- (DE CASTRO et al., 2014). Os animais que receberam exercício apresentaram diminuição da atividade da SOD independente da dieta com juçara, demonstrando assim efeito do exercício na atividade da SOD.

Sugere-se que a atenuação do estresse oxidativo ocorre pela diminuição da produção de ERO pelo fígado devido ao exercício, diminuindo assim a demanda da atividade antioxidante das enzimas como a SOD (DE CASTRO et al., 2014).

No entanto, outros estudos experimentais observaram efeito sobre enzimas antioxidantes após intervenção com extrato de juçara. Um estudo avaliou as enzimas antioxidantes nos fígados de camundongos ApoE *-/-* com intervenção de extrato liofilizado de juçara, após selecionar o melhor método para extração de antocianinas (NOVELLO et al., 2015). O método de extração com etanol e ácido cítrico resultou na maior concentração de antocianinas. Os animais foram divididos em cinco grupos: controle positivo - G1 (nocaute de ApoE, e dieta controle - AIN - Instituto Americano de Nutrição - M93), controle negativo - G2 (C57BL / 6, AIN - 93M), G3 e G4 (nocaute de ApoE que receberam AIN - 93M mais 2% e 6% de extrato de juçara liofilizado, respectivamente), e G5 (nocaute de ApoE, os quais receberam AIN-M93 mais 50 mg/ kg/d de sinvastatina). Entre os resultados, diminuição significativa nas atividades enzimáticas de catalase (CAT) e SOD foram observadas em G3 e G4 quando comparados ao grupo controle positivo. Os autores relataram que o extrato de juçara possivelmente promoveu atividade antioxidante através da ação de antocianinas e seus metabólitos, poupando assim as atividades das enzimas antioxidantes avaliadas.

Outro estudo avaliou o potencial antioxidante de intervenção com frutos juçara em camundongos dislipidêmicos (ApoE *-/-*). Os grupos tratados com 2%, 6% e 10% de extrato de juçara adicionada à dieta padrão, além de grupo tratado com dieta padrão mais 2% de α -tocoferol apresentaram atividade diminuída de CAT em relação aos camundongos controle (C57BL/6) tratados com dieta padrão. Além disso, o grupo de animais que recebeu dieta com extrato de 6% de juçara apresentou menor atividade de SOD que os demais grupos (CARDOSO et al., 2015b).

Camundongos ApoE *-/-* apresentam deficiências em um receptor proteico e, por essa razão, têm níveis elevados de colesterol e alta suscetibilidade para desenvolver aterosclerose e esteatose hepática (KOSTOGRYS et al., 2012). Estes animais têm sido utilizados para explorar fatores de risco para distúrbios do metabolismo lipídico e potencial terapêutico de compostos naturais em doenças do fígado. Essas condições estão relacionadas à produção exacerbada de espécies reativas (GONÇALVES et al., 2012; NOVAES et al., 2012; CARDOSO et al., 2015b) e, portanto, fontes alimentares ricas em compostos fenólicos com potencial antioxidante são de grande interesse.

O recente estudo de Freitas et al. (2017a) investigou o efeito da intervenção com juçara durante 50 dias em quatro grupos de ratos *Wistar* separados em grupos que receberam: dieta comercial - controle; G2: dieta comercial com extrato dos frutos da *Euterpe edulis* (4%), G3: dieta comercial com polpa liofilizada (10%), G4: dieta comercial mais polpa liofilizada e desengordurada (10%). Os resultados mostraram que os grupos G3 e G4 diminuíram a peroxidação lipídica. Além disso, o grupo que recebeu polpa desengordurada diminuiu a atividade enzimática de CAT, Glutathione S-Transferases (GST) e SOD quando comparado aos demais grupos. O maior teor de antocianinas no grupo G4 pode ter contribuído para a modulação do potencial redox, segundo os autores.

Freitas et al. (2017b) investigaram o efeito antioxidante e tóxico dos frutos juçara em tecidos renais e cardíacos em ratos *Wistar* alimentados com dieta de cafeteria. Os principais resultados foram aumento significativo na atividade da CAT em tecidos de animais alimentados com dieta de cafeteria mais 5% de extrato liofilizado de *Euterpe edulis*, 10% de extrato liofilizado de *Euterpe edulis* e 10% de extrato liofilizado e desengordurado de *Euterpe edulis*. Nenhum efeito foi demonstrado sobre a peroxidação lipídica nos tecidos cardíacos e renais. O estudo sugere diminuição do estresse oxidativo devido ao aumento da atividade enzimática em tecidos cardíacos de animais alimentados com extratos dos frutos de *Euterpe edulis*. Os autores hipotetizaram que extratos de juçara preveniram a inibição da expressão dessas enzimas, promovendo assim o aumento da atividade de algumas enzimas antioxidantes.

De acordo com nosso conhecimento, o único ensaio clínico com seres humanos foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa. Em um ensaio clínico com ingestão única de 450 mL de suco de juçara, biomarcadores de estresse oxidativo foram avaliados antes e após 1 h, 2 h 4 h de consumo, em indivíduos saudáveis. Os frutos foram processados com adição de água e houve 33,4 g de sólidos totais de juçara na amostra ingerida. Medidas repetidas de análise de variância revelaram interação significativa (entre tempo e tratamento) com diminuição da peroxidação lipídica ao longo do tempo. O tratamento teve um efeito significativo sobre a enzima glutathione peroxidase (GPx), com atividade máxima em 2h após o consumo agudo. Esta é a primeira e única evidência encontrada sobre a ingestão dos frutos juçara e demonstrou efeito positivo do suco sobre o estado antioxidante e parâmetro de danos oxidativos em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015a).

Os resultados de estudos experimentais que avaliaram o efeito de extratos de frutos juçara sobre enzimas antioxidantes ainda permanecem

controversos. Alguns estudos mostraram diminuição na atividade de enzimas antioxidantes, como SOD e CAT (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015; FREITAS et al., 2017a), enquanto outros estudos relataram aumento na atividade enzimática CAT do tecido em um modelo animal (FREITAS et al., 2017b) e GPx em amostra de hemolisado em ensaio clínico em humano (CARDOSO et al., 2015a).

Antioxidantes provenientes da dieta podem melhorar a atividade antioxidante endógena por fortalecerem os mecanismos de defesa contra o excesso de espécies reativas, neutralizando radicais livres ou diminuindo seu nível de atividade (HARASYM; OLEDZKI, 2014; BHOOSHAN KP; PANDEY, 2009).

Segundo Lei et al. (2016), as enzimas antioxidantes podem atuar diminuindo a produção de espécies reativas podendo haver assim diminuição da expressão destas enzimas. A diminuição da geração de espécies reativas pode ocorrer através da ação de compostos bioativos presentes nos extratos, como antocianinas e seus metabólitos (TSUDA, 2012), os quais podem atingir os tecidos e afetar o potencial antioxidante endógeno.

Contudo, propõe-se que por vias indiretas as antocianinas poderiam estimular a defesa antioxidante endógena por alguns mecanismos como ativação de genes que codificam estas enzimas (SHIH; YEH; YEN, 2005), reparação e estimulação da atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx, melhorando assim a formação de glutatona (TOUFEKTSIAN et al., 2008). Considerando o efeito dos frutos ricos em antocianinas em ensaios clínicos, em geral, a modulação das enzimas antioxidantes endógenas permanece incerta, uma vez que alguns trabalhos relatam aumento após a intervenção, enquanto outros não apresentam achados significativos (DEL BO et al., 2015). Ainda, quando avaliada em estudos experimentais em animais, a atividade antioxidante enzimática é influenciada por vários fatores como modelo animal e tipo de extrato utilizado (CARDOSO et al., 2015b).

Considerando o efeito do extrato de juçara sobre a peroxidação lipídica, alguns estudos demonstraram a atenuação deste biomarcador de dano oxidativo (CARDOSO et al., 2015a; FREITAS et al., 2016; FREITAS et al., 2017a).

A peroxidação lipídica é um processo associado à produção significativa de espécies reativas no interior das células. Esses processos podem causar danos às membranas celulares, proteínas e ao DNA. Por essa razão, a diminuição da produção de radicais livres pode, consequentemente, gerar menos danos às estruturas celulares (NOVAES et al., 2012).

Os compostos fenólicos são geralmente relacionados às propriedades bioativas e à modulação de biomarcadores de estresse oxidativo. A diminuição dos peróxidos lipídicos séricos possivelmente ocorre devido à absorção dos polifenóis dos frutos juçara que agem na estabilização de radicais livres como radicais peroxil. Por essa razão, são necessários mais estudos considerando a biodisponibilidade dos principais compostos bioativos presentes nos frutos juçara e seus metabólitos produzidos durante a digestão e absorção, em modelos experimentais humanos, possibilitando assim a confirmação dos potenciais benefícios à saúde sugeridos.

Parâmetros metabólicos

Diversos estudos relacionam o efeito de frutas ricas em antocianinas sobre parâmetros metabólicos, especialmente em biomarcadores associados à proteção cardiovascular. Os efeitos cardioprotetores de tais exposições são frequentemente atribuídos ao conteúdo de polifenóis destes alimentos (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014; REIS et al., 2016).

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem o principal problema de saúde pública na vida moderna (REIS et al., 2016). A avaliação de lipoproteínas são parâmetros preditores para analisar fatores de risco ou proteção para DCV. Níveis elevados de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) estão associados a um maior risco de desenvolvimento de DCV, enquanto alta concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) pode ser considerado fator de proteção (GORDON et al., 1977; GRAMMER et al., 2015).

Por outro lado, os *berries* podem ser relacionados à prevenção da aterosclerose por meio da inibição da peroxidação lipídica e melhora do estado antioxidante (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014; REIS et al., 2016). Outros efeitos dos *berries* estão associados à redução das concentrações de colesterol total, diminuindo assim a possibilidade de dano endotelial e deposição de colesterol nas células (FREITAS et al., 2017a). Neste contexto, os benefícios atribuídos aos *berries* sobre parâmetros metabólicos são associados às antocianinas. A ação das antocianinas está relacionada a diminuição das concentrações de LDL-c, inibição da oxidação lipídica e aumento da concentração fecal de ácidos esteróis (NILE; PARK, 2014; KRUGER et al., 2014).

Os frutos juçara possuem composição nutricional interessante por apresentarem alto teor de antocianinas e ácidos graxos insaturados

(BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015). A ingestão de ácidos graxos insaturados também está associada à benefícios para a saúde, diminuindo triglicerídeos e a lipogênese hepática (HARRIS; BULCHANDANI, 2006).

Nos últimos anos, a avaliação dos parâmetros metabólicos em estudos experimentais em animais a partir da administração de extrato de juçara tem chamado a atenção de pesquisadores. Alguns estudos *in vivo* utilizaram camundongos deficientes em ApoE devido à aceleração do processo de aterosclerose nestes animais. Dentre os estudos analisados na presente revisão duas investigações avaliaram o efeito dos frutos juçara em ratos ApoE (DE CASTRO et al., 2014; CARDOSO et al., 2015b). A Tabela 2 apresenta os resultados de estudos experimentais que investigam o efeito da suplementação de extrato dos frutos de *Euterpe edulis* e avaliação do perfil lipídico.

Estudo conduzido com grupo de camundongos *knockout* ApoE, os quais receberam dietas suplementadas com 10% de extrato de juçara, apresentaram redução significativa no peso em comparação com os grupos suplementados com 2% e 6% de extrato de juçara e com 2% de acetato de α -tocoferol. O grupo que recebeu dietas adicionadas de 10% de extrato de juçara apresentou redução nas concentrações de não-HDL-c em relação aos grupos que receberam dietas com 2% de extrato de juçara e 2% de acetato de α -tocoferol. Neste estudo, a diminuição nas concentrações de triglicerídeos foi considerado o efeito mais promissor nos grupos de animais que receberam dietas suplementadas com extrato de juçara (2%, 6% e 10%), fato que pode estar envolvido com a atenuação da esteatose hepática (CARDOSO et al., 2015b).

Estudo experimental em modelo animal com ratas prenhes relatou o efeito da suplementação do extrato de juçara sobre perfil lipídico, glicêmico e de marcadores inflamatórios, durante as fases de gestação e lactação (MORAIS et al., 2014). Os grupos que receberam extrato liofilizado de juçara (dieta controle com 0,5% de juçara adicionado - CJ - e dieta enriquecida com gordura vegetal hidrogenada com 0,5% de juçara - TJ), durante 21 dias, diminuam as concentrações de colesterol total (CT) e triglicerídeos em relação ao grupo que recebeu apenas dieta adicionada de gordura vegetal hidrogenada. Um estudo recente (ARGENTATO et al., 2017) cujo protocolo é muito semelhante ao de Morais et al. (2014), demonstrou diminuição do ganho de peso e de triglicerídeos na prole em que a dieta materna foi adicionada de 0,5% de extrato de juçara liofilizado, durante a gestação e lactação.

Em outra investigação (mais detalhes sobre o delineamento do estudo na seção "Atividade Antioxidante"), em que os grupos receberam

dieta padrão AIN-93M suplementadas com 2% e 6% de juçara liofilizada, ou dieta padronizada AIN-93M acrescida de 50 mg/kg/d de sinvastatina, os animais apresentaram diminuição significativa na glicemia, LDL-c, razões de CT/HDL-c e LDL-c/HDL-c em comparação com a dieta padrão de tratamento (controle positivo). Os animais que receberam extrato de juçara (2% e 6%) apresentaram valores inferiores de CT, demonstrando bons resultados na redução do risco cardiovascular (NOVELO et al., 2015).

Estudo experimental em animais demonstrou o efeito da adição de extrato de juçara em dietas hipercalóricas e hiperlipídicas sobre parâmetros metabólicos após dez semanas de consumo. O principal resultado encontrado foi que os grupos que receberam dietas adicionadas de 0,5% de juçara denotaram melhorar na resposta glicêmica. Os animais que receberam dietas ricas em calorias e lipídios com 0,5% e 2% de extrato de juçara não apresentaram alterações na composição corporal. Inesperadamente, os animais que receberam dieta normocalórica com adição de 2% de juçara ganharam massa corporal. Os valores de adiponectina no grupo com dietas adicionadas de 0,5% de extrato de juçara diminuíram em comparação ao grupo controle (OYAMA et al., 2016).

Já o recente estudo de Freitas et al. (2017a) relatou que grupos de ratos *Wistar* que receberam polpa liofilizada e desengordurada de juçara (10%) adicionada na dieta, diminuíram as concentrações séricas de CT, enquanto outros parâmetros como glicose, triglicerídeos, HDL-c, AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Os diferentes modelos animais utilizados e as disparidades nas concentrações de extrato de juçara em estudos experimentais dificultam a comparação entre as investigações. Alguns estudos relataram perda de peso (CARDOSO et al., 2015b; ARGENTATO et al., 2017), diminuição nas concentrações de triglicerídeos (MORAIS et al., 2014; CARDOSO et al., 2015b; ARGENTATO et al., 2017), redução do LDL-c (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015) e diminuição do CT (MORAIS et al., 2014; NOVELLO et al., 2015; FREITAS et al., 2017a). Enquanto outras investigações em animais não demonstraram efeito sobre o perfil lipídico (DE CASTRO et al., 2014; OYAMA et al., 2016; FREITAS et al., 2017a). Apesar do efeito cardioprotetor dos *berries* ser amplamente estudado devido seu conteúdo de compostos bioativos e antocianinas, os efeitos de intervenções com extrato obtidos a partir dos frutos juçara sobre o perfil lipídico ainda parecem ser inconclusivos e por essa razão, novos estudos são encorajados.

Considerando o efeito do fruto juçara sobre a glicemia, estudo realizado por Oyama et al. (2016) encontrou como principal resultado a melhora da resposta glicêmica em camundongos alimentados com dieta normocalórica, hipercalórica ou hiperlipidêmica acrescentadas de 0,5% de extrato liofilizado de juçara. Da mesma forma, Argentato et al. (2017) também demonstrou diminuição da glicemia na prole de mães alimentadas com dieta adicionada de 0,5% de extrato de juçara liofilizada. Outros estudos também evidenciaram diminuição significativa da glicose sérica após adição de 2% e 6% de extrato liofilizado de juçara nas dietas de camundongos *knockout* modelo ApoE em comparação com o grupo controle (NOVELLO et al., 2015).

Há evidências de que os compostos fenólicos podem auxiliar a homeostase da glicose através da estimulação de transportadores de glicose do tipo 4 (GLUT4). Além disso, as antocianinas podem ativar a proteína quinase pelo monofosfato de adenosina (AMPK), que atua na captação de glicose pelos tecidos, promovendo a lipólise e a redução da síntese do colesterol (TAKIKAWA et al., 2010).

Evidências apresentadas por estudos experimentais em animais parecem promissoras, porém existe a preocupação de que até o presente momento não tenha sido localizado ensaio clínico de ingestão prolongada de fruto juçara por seres humanos para melhor elucidar os efeitos da ingestão de polpa ou suco de juçara sobre parâmetros metabólicos, afetando diretamente a prevenção ou terapêutica de doenças crônicas. Estudos em animais são importantes para avaliar potenciais atividades biológicas, mas devem ser interpretados com cautela devido a limitações destes modelos.

Além disso, ensaios clínicos randomizados são delineamentos confiáveis para inferir relações de causa e efeito. A fim de estabelecer interações entre compostos fenólicos e resultados clínicos, intervenções controladas são necessárias (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

Percebe-se que apesar dos potenciais benefícios relacionados aos frutos juçara sobre parâmetros metabólicos, ainda se faz necessário que algumas estratégias sejam padronizadas, como a concentração do extrato utilizado, ou mesmo o uso de suco, polpa ou extrato liofilizado; tempo de consumo e biomarcadores laboratoriais, para assim verificar a influência desta intervenção na prevenção ou tratamento complementar de doenças crônicas.

Ainda, é necessário considerar as diferenças entre a biodisponibilidade de compostos fenólicos entre animais e humanos (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014). Desta forma, a forma mais eficaz de avaliar o efeito real de intervenções ricas em polifenóis nos humanos,

especialmente na cardioproteção, seria através de ensaios controlados e randomizados controlados (RODRIGUEZ-MATEOS et al., 2014).

Sendo assim, mais esforços devem ser direcionados para elucidar os mecanismos relacionados aos efeitos do fruto juçara por meio de modelos experimentais *in vivo*, considerando a metabolização dos compostos fenólicos em concentrações biológicas.

Efeito anti-inflamatório

A inflamação é um processo inerente do sistema imunológico caracterizado como uma resposta orgânica a alguma lesão. As citocinas são moléculas imuno-modulatórias que são usadas como marcadores para auxiliar a quantificação da resposta inflamatória (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014).

O fator nuclear kappa B (NF- κ B) é um fator de transcrição que, quando ativado, estimula a expressão de genes responsáveis pela produção de citocinas. Os biomarcadores pró-inflamatórios incluem proteínas de fase aguda, citocinas (fator de necrose tumoral - TNF- α , interleucina 6 - IL-6, interleucina 1 β - IL-1 β , proteína quimioatrativa de monócitos 1- MCP-1); e moléculas de adesão (E-selectina, P-selectina, molécula de adesão vascular sVCAM-1, molécula de adesão intercelular solúvel - sICAM-1). Marcadores anti-inflamatórios podem ser avaliados por meio da quantificação de citocinas como IL-10 e adiponectina (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014). Além disso, a expressão gênica de fatores de transcrição e receptores em células imunes podem ser estimuladas ou inibidas, sendo também considerados biomarcadores do estado inflamatório (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014).

A resposta inflamatória pode influenciar a produção de ERO e, portanto, o estado redox. Este ciclo favorece a formação de um estado de estresse oxidativo e inflamatório causando danos à saúde e promovendo o desenvolvimento de doenças crônicas (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014).

Nesse contexto, os compostos fenólicos poderiam conferir proteção contra doenças crônicas relacionadas à inflamação (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014). Os polifenóis podem atuar ativando ou inibindo várias vias de sinalização por meio da modulação de proteínas, resultando na intensificação de fatores de transcrição (por exemplo, fator nuclear kappa B - NF- κ B), alterando a ativação de receptores bem como seus ligantes como Receptor Ativado

por Proliferador γ (PPAR- γ do inglês *Proliferator-Activated Receptor γ*) (TANGNEY; RASMUSSEN, 2013).

As antocianinas constituem a subclasse de polifenóis com quantidades relevantes no fruto juçara. Sugere-se que importantes atividades biológicas dos *berries* estão relacionadas às antocianinas, dentre elas, o efeito anti-inflamatório (WALLACE, 2011; JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014). A ação das antocianinas no estado inflamatório pode ocorrer por meio do controle da migração e proliferação das células, bem como pela inibição da produção de mediadores inflamatórios (WALLACE, 2011; JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014; ZHANG; LIU; TSAO, 2016).

Encontrar estratégias dietéticas que atuem sobre o estado inflamatório, têm implicações importantes para reduzir o risco de doenças crônicas e podem ajudar a atualizar as diretrizes com o objetivo de promover a saúde (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014).

Neste sentido, alguns estudos experimentais em animais avaliaram o efeito da suplementação de juçara sobre marcadores inflamatórios. No estudo de Freitas et al. (2017a) (mais detalhes podem ser encontrados na seção 'Atividade antioxidante') o grupo G4 (10% de extrato liofilizado e desengordurado de juçara adicionado na ração de ratos *Wistar* por 50 dias) apresentou diminuição nas citocinas inflamatórias (IL-17, IFN- γ e TNF- α) comparado com os outros grupos (óleo e apenas polpa liofilizada). No entanto, o G4 também foi associado com a diminuição de biomarcadores anti-inflamatórios (IL-4 e IL-10) em comparação com os outros tratamentos. A possível explicação dos autores foi de que a diminuição na produção de citocinas pró-inflamatórias pode gerar uma redução nos mediadores anti-inflamatórios, contribuindo para manter a homeostase tecidual (JIANG et al., 2016). Ainda, a suplementação de juçara foi considerada uma alternativa promissora para modular a resposta inflamatória.

Um estudo suplementou juçara (0,5%) em dieta controle e dieta enriquecida com óleo vegetal hidrogenado (com alto teor de ácidos graxos *trans*) durante a gestação e lactação, em ratos *Wistar*. Os resultados mostraram que as dietas com alto teor de ácidos graxos *trans* aumentaram os marcadores inflamatórios (TNF- α e TNFRI), enquanto que os grupos que receberam juçara adicionada à dieta aumentaram o marcador anti-inflamatório IL-10 no tecido adiposo marrom (ARGENTATO et al., 2017).

O estudo realizado por Morais et al. (2014) (mais detalhes na seção Parâmetros Metabólicos) relataram que os grupos de ratas

(gestantes ou lactantes) que receberam dieta com adição de 0,5% juçara (CJ e TJ) diminuíram citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF- α e expressão gênica de IL-6R, TNF- α R e receptor do tipo toll-4 (TLR-4). Ainda, o marcador anti-inflamatório IL-10 e a relação IL-10/TNF- α foram superiores no grupo CJ em comparação ao grupo T. Os autores acreditam que o efeito anti-inflamatório propiciado com a intervenção com juçara possa estar associado ao seu conteúdo de polifenóis, particularmente antocianinas e ácidos graxos poli-insaturados.

Morais et al. (2015) observaram em estudo experimental em animais que a suplementação de 0,5% de juçara em dieta com gordura vegetal hidrogenada (dieta rica em ácidos graxos *trans*) diminuiu a ativação da via NF κ B e o TNF α receptor I (TNFR1) no fígado de ratos. Possivelmente, esses efeitos contribuíram para a diminuição dos marcadores pró-inflamatórios IL-6 e TNF- α no fígado e no tecido adiposo branco retroperitoneal. Além disso, os grupos que receberam intervenção com 0,5% de juçara aumentaram os marcadores anti-inflamatórios, como IL-10 e relação IL-10/ TNF- α no fígado da prole, quando comparados ao grupo que recebeu apenas dieta enriquecida com gordura vegetal hidrogenada. O conteúdo fenólico na dieta materna demonstrou efeito protetor contra o estado de inflamação na prole avaliada.

Outro estudo experimental em animais evidenciou que a ingestão de 2% de extrato liofilizado de juçara em dieta hipercalórica e hiperlipídica de camundongos promoveu diminuição dos marcadores IL-10 e IL-6, diminuindo a inflamação. No entanto, a concentração de 0,5% de juçara não foi capaz de alterar esta condição (OYAMA et al., 2016).

Um estudo realizado por Castro et al. (2014) demonstrou diminuição de 42% na expressão de proteína-mRNA1 de monócito (marcador relacionado com o processo aterogênico) no fígado de camundongos *knockout* ApoE expostos apenas ao treinamento físico enquanto a suplementação de juçara não mostrou efeito sobre esse marcador.

Em suma, extratos obtidos a partir dos frutos juçara adicionados às dietas de animais parecem influenciar o estado inflamatório de forma promissora. A maioria dos estudos analisados evidenciou diminuição dos marcadores pró-inflamatórios após a suplementação com juçara, particularmente os marcadores TNF- α (FREITAS et al., 2017a; MORAIS et al., 2014; MORAIS et al., 2015) e IL-6 (OYAMA et al., 2016; MORAIS et al., 2014; MORAIS et al., 2015). No entanto, algumas investigações relataram diminuição nos marcadores anti-inflamatórios, como o mediador IL-10 (OYAMA et al., 2016; FREITAS et al., 2017a),

enquanto outros mostraram um aumento no mesmo mediador (MORAIS et al., 2014; ARGENTATO et al., 2017; MORAIS et al., 2015).

Contudo, devido à diversidade de modelos animais, concentrações de juçara ingerida e variedade de biomarcadores, é difícil inferir conclusões mais específicas sobre os parâmetros avaliados.

Embora os *berries* sejam relacionados à melhora do estado inflamatório em seres humanos (JOSEPH; EDIRISINGHE; BURTON-FREEMAN, 2014), ainda faltam ensaios clínicos controlados que avaliem o efeito do fruto, suco ou polpa de juçara sobre parâmetros inflamatórios em indivíduos com condições patológica ou não.

É importante e necessário que os estudos incluam biomarcadores do estado inflamatório mais completos e não isolados para um melhor entendimento da relação do fruto juçara na modulação da inflamação. Por esta razão, ensaios clínicos são incentivados.

Os estudos que avaliaram o consumo do fruto juçara sobre alterações dos biomarcadores atribuem este efeito ao seu conteúdo de compostos fenólicos, particularmente antocianinas. Entretanto, é importante ressaltar que a modulação da microbiota intestinal pelas antocianinas pode estar relacionada com os mecanismos pelos quais estes antioxidantes exercem seus benefícios (JAKOBSDOTTIR et al., 2013). Sugere-se que a regulação dos marcadores pró-inflamatórios possa ocorrer através da modulação da microbiota pelas antocianinas e seus metabólitos (MORAIS et al., 2014). Desta forma, mais estudos nesta área são necessários.

Outros efeitos

Morais et al. (2015) evidenciou que a adição de 0,5% de juçara na dieta materna (grupo TJ) restaurou o conteúdo fecal de *Bifidobacterium* spp., e aumentou a expressão de RNAm das zônulas ocludentes (ZO-1). As zônulas ocludentes são proteínas de membrana que regulam a permeabilidade celular e exercem a função de barreira celular (HAMADA et al., 2010). Assim, alterações na expressão de RNAm da proteína de ZO-1 pode alterar a junção entre as células, melhorando a permeabilidade intestinal (HAMADA et al., 2013). Os autores levantam a hipótese de que o aumento de *Bifidobacterium* spp. nos grupos tratados com extrato de juçara desempenharam papel importante na diminuição de marcadores pró-inflamatórios (mostrados na "seção Anti-inflamatória"). Este efeito também pode estar relacionado com a diminuição da permeabilidade da mucosa intestinal devido ao aumento da expressão de

ZO-1. Os autores associam a modulação da microbiota intestinal com os metabólitos dos compostos de juçara pelo trato gastrointestinal.

A investigação realizada por Morais et al. (2014) também demonstrou aumento de microrganismos probióticos (*Lactobacillus* spp.) no cólon de prole cujas mães foram alimentadas com dieta adicionada de 0,5% de extrato de juçara. Os autores acreditam que a modulação da microbiota intestinal pelos compostos presentes no fruto juçara (fibras e polifenóis) promoveu a melhora do estado inflamatório, reduzindo o risco de desenvolvimento de doenças crônicas.

Ainda neste sentido, a microbiota intestinal em cultura anaeróbia *in vitro* foi modulada por polpa de juçara. Houve aumento significativo na população de bifidobactérias (bactérias benéficas) após 24 horas de fermentação em comparação ao grupo placebo (controle negativo: nutriente basal sem substrato e com adição de prebiótico). A maioria das antocianinas foi degradada durante a digestão, mas 46% do total de compostos fenólicos resistiram à digestão, tornando-os importantes fontes de atividade antioxidante que podem atingir o cólon. Este é o primeiro estudo a avaliar os possíveis efeitos prebióticos da polpa de juçara. Os pesquisadores observaram que os estudos em humanos devem ser encorajados para comprovar ainda mais a eficácia desta polpa (GUERGOLETTTO et al., 2016).

Ressalta-se que Felzenszwalb et al. (2013) avaliaram o efeito toxicológico da polpa de juçara, não sendo relatados efeitos adversos. Recentemente, a juçara também chamou atenção no desenvolvimento de novos produtos. Geraldi et al. (2017) acrescentaram polpa de juçara e probiótico comercial (*Lactobacillus acidophilus*) em iogurtes para avaliar a sobrevivência do probiótico após digestão gástrica e entérica simulada *in vitro*. A polpa de juçara parece ser uma boa estratégia na produção de iogurtes aumentando a resistência dos probióticos em até 14 dias de armazenamento, mesmo após a estimulação de condições gastrointestinais. Os autores sugerem com este estudo que os polifenóis, em particular as antocianinas, podem ter melhorado a viabilidade probiótica.

O estudo de Argentato et al. 2017 também avaliou a suplementação de juçara (0,5%) em dietas maternas enriquecidas com óleo vegetal hidrogenado (com alto teor de ácidos graxos *trans*) em biomarcador de gasto energético. A intervenção com juçara (0,5%) aumentou a expressão da proteína desacopladora 1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom, parâmetro relacionado ao gasto energético através da termogênese. Os autores atribuíram seus resultados aos compostos bioativos do fruto juçara e acreditam que este fruto pode ser usado para

prevenir a obesidade. No entanto, os mecanismos pelos quais os compostos fenólicos podem afetar a termogênese ainda não são totalmente compreendidos. Além disso, a composição dos frutos de juçara, ricos em ácidos graxos oleico e palmítico, adicionados ainda em dieta rica em lipídios, também poderia ter influenciado o aumento da expressão da UCP-1.

Parece haver um interesse emergente em relacionar o fruto juçara e seu efeito sobre probióticos. A partir dos resultados expostos sugere-se aumento da expressão do RNAm das zônulas colônicas (ZO-1); aumento de probióticos (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus* spp.) e ainda aumento da resistência de probióticos quando adicionados a produtos lácteos amplamente consumidos, como o iogurte. Em geral, os autores relacionam os achados positivos à composição nutricional do fruto juçara, ricos em antocianinas e ácidos graxos insaturados. Esses resultados parecem promissores e poderiam ser representativos na prevenção de doenças crônicas. No entanto, vale ressaltar que a modulação da microbiota intestinal a partir da ingestão do fruto juçara em seres humanos ainda não foi demonstrada.

Conclusão

Estudos acerca de estratégias alimentares para a prevenção de doenças vêm ganhando relevância na sociedade moderna. Alimentos fontes de compostos naturais e bioativos podem influenciar e auxiliar a manutenção da saúde. É necessário encorajar pesquisas para elucidar novas descobertas que confirmem os efeitos biológicos de alimentos e bebidas. É importante considerar que alguns alimentos podem exercer influência sobre a prevenção de muitas doenças crônicas.

O objetivo desta revisão foi avaliar criticamente a existência de dados clínicos sobre o fruto juçara e os efeitos biológicos. Os dados revisados consideraram o fruto juçara e seus derivados como suco, extrato e polpa liofilizada. Um capítulo sobre a caracterização nutricional do fruto juçara também foi incluído para auxiliar na compreensão de seus efeitos biológicos.

Sugere-se que o fruto juçara exerça efeitos positivos sobre a peroxidação lipídica, estado inflamatório, concentrações séricas de glicose e ainda sobre microrganismos probióticos. O efeito do fruto sobre os parâmetros de perfil lipídico e enzimas antioxidantes ainda parecem ser controversos, enquanto alguns estudos demonstram efeitos positivos e outros não.

A maioria dos estudos *in vivo* foi realizado em modelos animais e, embora os resultados tenham sido promissores, ainda é necessário padronizar algumas estratégias, como a concentração do extrato utilizado ou mesmo o uso de suco, polpa ou pó liofilizado obtido a partir do fruto juçara; além do tempo de consumo e biomarcadores laboratoriais.

Os resultados positivos encontrados após a administração do fruto juçara são atribuídos a sua interessante composição nutricional. Componentes do fruto do juçara, como compostos fenólicos, especialmente antocianinas e ácidos graxos insaturados, são sugeridos como responsáveis por esses efeitos.

É importante enfatizar que os compostos fenólicos são metabolizados pela microbiota intestinal, e seus metabólitos podem exercer efeitos sobre a permeabilidade do intestino e contribuir para os efeitos biológicos dos compostos principais. A biodisponibilidade e o metabolismo dos polifenóis podem ser diferentes entre animais e humanos. Desta forma, é notável a escassez de ensaio clínico em seres humanos para melhor esclarecer os efeitos da polpa de juçara e seus derivados, os quais podem influenciar a prevenção ou a terapêutica de doenças crônicas.

Como já mencionado, é possível que usualmente o fruto juçara seja denominado açai para torná-lo comercialmente relevante, apesar de pertencer a uma espécie diferente de palmeira (CHAIMSOHN; CHIQUETTO, 2013). Com esta presente revisão, se espera que os potenciais benefícios à saúde da ingestão do fruto juçara e seus derivados se expandam no que tange seu efeito sobre a nutrição humana e ainda fortaleçam sua identidade.

Além disso, a palmeira *Euterpe edulis* é uma palmeira importante para a fauna e flora da Mata Atlântica. Portanto, um maior conhecimento sobre seus principais efeitos biológicos pode promover a conservação destas espécies, as quais se encontram em risco de extinção atualmente.

Informações de Apoio

Um fluxograma acerca da seleção dos estudos relatados na presente revisão se encontra disponível como Informação de Apoio (Figura 1S).

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Edital Universal do CNPq,

MCT/CPNq 14/2012, número 483929 / 2012-3) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Por fim, gostaríamos também de agradecer ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

References

ARGENTATO PP, MORAIS CA, SANTAMARINA AB, CESAR HC, ESTADELLA D, ROSSO VV, PISANI LP. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates UCP-1 and inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the brown adipose tissue of offspring. **Clinical Nutrition Experimental**, v.12, 50-65, 2017.

BHOOSHAN KP, PANDEY KB, RIZV, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, 270–278, 2009.

BICUDO, MO, RIBANI, RH, BETA, T. Anthocyanins, Phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, 142-147, 2014.

BORGES, GSC, GONZAGA, LV, JARDINI, FA, MANCINI FILHO, J, HELLER, M, MICKE, G, COSTA ACO, 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, 363-369, 2013.

BORGES, GSC, VIEIRA, FGK, COPETTI, C, GONZAGA, LV, ZAMBIAZI, RC, MANCINI FILHO, J, FETT R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, 2128-2133, 2011.

BRITTON G, KHACHIK F. Carotenoids nutrition and health. In: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H, editors. **Carotenoids in food**. Boston: Birkhauser Basel, v.5, 45-66, 2009.

CARDOSO, AL, DI PIETRO, PF, VIEIRA, FGK, BOAVENTURA, BCB, DE LIZ, S, BORGES, GSC, FETT, R, ANDRADE, DF, DA SILVA, EL. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, 152-162, 2015a.

CARDOSO, LM, NOVAES, RD, CASTRO, CA, NOVELLO, AA, GONCALVES, RV, RICCI-SILVA, ME, RAMOS, HJO, PELUZIO, MCG, LEITE, JPV. Chemical composition, characterization of anthocyanins and antioxidant potential of *Euterpe edulis* fruits: applicability on genetic dyslipidemia and hepatic steatosis in mice. **Nutrición Hospitalaria**, v. 32, 702-709, 2015b.

CHAIMSOHN, FP, CHIQUETTO NC. Construção do marco legal para a produção de açaí de juçara: contribuições da “oficina interestadual sobre legislação, comercialização e marketing para exploração de frutos da palmeira juçara”. **Revista Conexão**, v. 9, 244-253, 2013.

COSTA, AGV, GARCIA-DIAZ, DF, JIMENEZ P, SILVA PI. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-blackberries. **Journal of Funct Foods**, v. 5, p. 539-549, 2013.

CROWE, F. L.; RODDAM, A. W.; KEY, T.J.; APPLEBY, P. N.; 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. **European Heart Journal**, 32, 1235-1243, 2011.

DA SILVA PPM, DO CARMO LF, SILVA GM, SILVEIRA-DINIZ MF, CASEMIRO RC, SPOTO MHF. Physical, chemical, and lipid composition of juçara (*Euterpe edulis* Mart.) pulp. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, 7-13, 2013.

DA SILVA, NA, RODRIGUES, E, MERCADANTE, AZ, DE ROSSO VV. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, 5072-5084, 2014.

DE BRITO ES, ARAÚJO MCP, ALVES RE, CARKEET C, CLEVIDENCE B, NOVOTNY JA. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, 9389-9394, 2007.

DE CASTRO, CA, NATALI, AJ, CARDOSO, LM, FERREIRA-MACHADO, AB, NOVELLO, AA, DA SILVA, KA, TAFURI, NF, DA MATA, SL, PEDROSA, ML, PELUZIO, MC. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, v. 112, 285-294, 2014.

DEL BÓ C, MARTINI D, PORRINI M, KLIMIS-ZACAS D, RISO P. Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. **Food & Function**, v.6, 2890-2917, 2015.

DEL RIO, D, RODRIGUEZ-MATEOS, A, SPENCER, JP, TOGNOLINI, M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxid Redox Signal**, v.18, p.1818-1892, 2013.

FELZENSZWALB I, DA MARQUES MRC, MAZZEI JL, AIUB CAF. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: A potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, 536-544, 2013.

FREITAS RB, MELATO FA, OLIVEIRA JM, BASTOS DS, CARDOSO RM, LEITE JPV, LIMA LM. *Euterpe edulis* effects on cardiac and renal tissues of *Wistar* rats fed with cafeteria diet. **Nutrición hospitalaria**, v. 34, 186-192, 2017b.

FREITAS RB, NOVAES RD, GONÇALVES RV, MENDONÇA BG, SANTOS EC, RIBEIRO AQ, LIMA LM, FIETTO LG, PELUZIO MCG, LEITE JPV. *Euterpe edulis*: extract but not oil enhances antioxidant defenses and protects against nonalcoholic fatty liver disease induced by a high-fat diet in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 1-9, 2016.

FREITAS RB, RÔMULO DN, BIANCA GM, ELIZIÁRIA CS, MURILO SA, LUCIANO GF, LUCIANA ML, MARIA DO CARMO P, REGGIANI VVG, JOÃO PAULO, L. *Euterpe edulis* extracts

positively modulates the redox status and expression of inflammatory mediators. **Food and Agricultural Immunology**, 2017a; doi: 10.1080/09540105.2017.1360255

GERALDI MV, TULINI FL, SOUZA VM, DE MARTINIS ECP. Development of yoghurt with juçara pulp (*Euterpe edulis* M.) and the probiotic *Lactobacillus acidophilus* La5. **Probiotics Antimicrob Proteins**, v. 10, p. 71-76, 2017.

GONÇALVES RV, NOVAES RD, LEITE JP, VILELA EF, CUPERTINO MC, NUNES LG, MATTA SL. Hepatoprotective effect of *Bathysa cuspidata* in a murine model of severe toxic liver injury. **International Journal Of Experimental Pathology**, v. 93, 370-376, 2012.

GORDON T, CASTELLI WP, HJORTLAND MC, KANNEL WB, DAWBER TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. **American Journal of Medicine**, v. 62, 707-714, 1977.

GRAMMER TB, KLEBER ME, MARZ W, SILBERNAGEL G, SIEKMEIER R, WIELAND H, PILZ S, TOMASCHITZ A, KOENIG W, SCHARNAGL H. Low-density lipoprotein particle diameter and mortality: the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study. **European Heart Journal**, v.36, 31-38, 2015.

GUERGOLETTO KB, COSTABILE A, FLORES G, GARCIA S, GIBSON GR. In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v. 196, 251-258, 2016.

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

HAMADA K, KAKIGAWA N, SEKINE S, SHITARA Y, HORIE T. Disruption of ZO-1/claudin-4 interaction in relation to inflammatory responses in methotrexate-induced intestinal mucositis. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 72, 757-765, 2013.

HAMADA K, SHITARA Y, SEKINE S, HORIE T. Zonula occludens-1 alterations and enhanced intestinal permeability in methotrexate-treated

rats. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 66, 1031-1038, 2010. doi: 10.1007/s00280-010-1253-9.

HARASYM J, OLEDZKI R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. **Nutrition**, v.30, 511-517, 2014.

HARRIS WS, BULCHANDANI D. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides? **Current Opinion in Lipidology**, v.17, 387-393, 2006.

INADA, KOP, OLIVEIRA, AA, REVORÊDO, TB, MARTINS, ABN, LACERDA, ECQ, FREIRE, AS, BRAZ, BF, SANTELLI, RE, TORRES, AG, PERRONE, D, MONTEIRO MC. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**; v.17, 422-433, 2015.

IOM - Institute of Medicine (US). Panel on Micronutrients. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): **National Academy Press** 2001; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/> Accessed

JAKOBSDOTTIR G, BLANCO N, XU J, AHRNÉ S, MOLIN G, STERNER O, NYMAN M. Formation of short-chain fatty acids, excretion of anthocyanins, and microbial diversity in rats fed blackcurrants, blackberries, and raspberries. **Journal of nutrition and metabolismo**, 1-12, 2013.

JIANG M, KLEIN M, ZANGER UM, MOHAMMAD MK, CAVE MC, GAIKWAD NW, DIAS NJ, SELCER KW, GUO Y, HE J, ZHANG X, SHEN Q, QIN W, LI J, LI S, XIE W. Inflammatory regulation of steroid sulfatase: A novel mechanism to control estrogen homeostasis and inflammation in chronic liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 64, 44-52, 2016. doi:10.1016/j.jhep.2015.07.022

JOSEPH SV, EDIRISINGHE I, BURTON-FREEMAN BM. Berries: Anti-inflammatory effects in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, 3886-3903, 2014.

KANG J, THAKALI KM, XIE C, KONDO M, TONG Y, OU B, JENSEN G, MEDINA MB, SCHAUSS AG, WU X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v.133, 671-677, 2012.

KOSTOGRYS RB, FRANCZYK-ŻARÓW M, MAŚLAK E, GAJDA M, MATEUSZUK L, JACKSON CL, CHŁOPICKI S. Low carbohydrate, high protein diet promotes atherosclerosis in apolipoprotein E/low-density lipoprotein receptor double knockout mice (apoE/LDLR^{-/-}). **Atherosclerosis**, v. 223, 327-331, 2012.

KRUGER MJ, DAVIES N, MYBURGH KH, LECOUR S. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research International**, v. 59, 41-52, 2014.

LEI XG, ZHU JH, CHENG WH, BAO Y, HO YS, REDDI AR, HOLMGREN A, ARNÉR ES. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: basic mechanisms and health implications. **Physiological Reviews**, v. 96, 307-364, 2016.

LOWE F. Biomarkers of oxidative stress. In: Laher I, editor. *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. **Springer, Berlin, Heidelberg**, v. 2:3, 65-87, 2014.

MORAIS CA, OYAMA LM, CONRADO RM, ROSSO VV, NASCIMENTO CO, PISANI LP. Polyphenols-rich fruit in maternal diet modulates inflammatory markers and the gut microbiota and improves colonic expression of ZO-1 in offspring. **Food Research International**, v. 77, 186-193, 2015.

MORAIS CA, OYAMA LM, OLIVEIRA JL, GARCIA MC, ROSSO VV, AMIGO LSM, NASCIMENTO CM, PISANI LP. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates the gene and protein expression of inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the colon of offspring. **Mediators of Inflammation**, 2014. doi: 10.1155/2014/987927.

MOTOHASHI N, SAKAGAMI H. Anthocyanins as Functional Food Colors. In: Hoop H, Swart P, editors. **Bioactive Heterocycles**, VII, 2009.

NILE SH, PARK SW. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, 134-144, 2014.

NOVAES RD, GONÇALVES RV, MARQUES DC, CUPERTINO MC, PELUZIO MC, LEITE JP, MALDONADO IR. Effect of bark extract of *Bathysa cuspidata* on hepatic oxidative damage and blood glucose kinetics in rats exposed to paraquat. **Toxicologic Pathology**, v. 40, 62-70, 2012.

NOVELLO, AA, DA CONCEIÇÃO, LL, DIAS, MMS, CARDOSO, LM, DE CASTRO, CA, RICCI-SILVA, ME, LEITE, JPV, PELUZIO, MCG. Chemical characterization, antioxidant and antiatherogenic activity of anthocyanin-rich extract from *Euterpe edulis* Mart. in mice. **Journal of Food and Nutrition Research**, v.54,101-112, 2015.

OYAMA, LM, SILVA, FP, CARNIER, J, DE MIRANDA, DA, SANTAMARINA, AB, RIBEIRO, EB, DO NASCIMENTO, CMO, DE ROSSO, VV. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 8, 1-8, 2016.

PERON DV, FRAGA S, ANTELO F. Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from juçara (*Euterpe edulis* Martius) and “Italia” grapes (*Vitis vinifera* L.), and the effect of heating on the antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 232, 836–840, 2017.

REIS JF, MONTEIRO VVS, GOMES RS, DO CARMO MM, DA COSTA GV, RIBERA PC, MONTEIRO MC. Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, 315, 2016.

RODRIGUEZ-MATEOS A, HEISS C, BORGES G, CROZIER A. Berry (poly)phenols and cardiovascular health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, 3842-3851, 2014.

RUFINO MSM, ALVES RE, BRITO ES, PÉREZ-JIMÉNEZ J, SAURA-CALIXTO F, MANCINI FILHO J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, 996-1002, 2010.

SCHAUSS AG, WU X, PRIOR RL, OU B, PATEL D, HUANG D, KABABICK JP. Phytochemical and nutrient composition of the

freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, 8598-8603, 2006.

SCHULZ M, BILUCA FC, GONZAGA LV, BORGES GD, VITALI L, MICKE GA, DE GOIS JS, DE ALMEIDA TS, BORGES DL, MILLER PR, COSTA AC, FETT R. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of açuara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 228, 447-454, 2017.

SCHULZ, M, BORGES GSC, GONZAGA LV, SERAGLIO SKT, OLIVO IS, AZEVEDO MS, NEHRING P, GOIS JS, ALMEIDA TS, VITALI L, SPUDEIT DA, MICKE GA, BORGES DLG, FETT R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of açuara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, 125-131, 2015.

SCHULZ, M, BORGES, GSC, GONZAGA, LV, COSTA, ACO, FETT, R. Açuara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, 14-26, 2016.

SHIH PH, YEH CT, YEN GC. Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, 1557-1566, 2005.

SPENCER, JPE, CROZIER A. Flavonoids and related compounds: bioavailability and function of flavonoids: oxidative stress and disease. 1st edition. Boca Raton: **Florida CRC Press**; v. 30, p. 45-78, 2012.

TAKIKAWA M, INOUE S, HORIO F, TSUDA T. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. **Journal of Nutrition**, v.140, 527-533, 2010.

TANGNEY CC, RASMUSSEN HE. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. **Current Atherosclerosis Reports**, v.15, 324, 2013. doi: 10.1007/s11883-013-0324-x.

TOUFEKTSIAN MC, LORGERIL M, NAGY N, SALEN P, DONATI MB, GIORDANO L, MOCK HP, PETEREK S, MATROS A, PETRONI K, PILU R, ROTILIO D, TONELLI C, de LEIRIS J, BOUCHER F, MARTIN C. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. **Journal of Nutrition**, v.138, 747-752, 2008.

TSUDA T. Dietary anthocyanin-rich plants: biochemical basis and recent progress in health benefits studies. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 56, 159-170, 2012.

VIEIRA GS, CAVALCANTI RN, MEIRELES MAA, HUBINGER MD. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119,196-204, 2013.

VIEIRA GS, MARQUES ASF, MACHADO MTC, SILVA VM, HUBINGER MD. Determination of anthocyanins and non-anthocyanin polyphenols by ultra performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (UPLC/ESI-MS) in jussara (*Euterpe edulis*) extracts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, 2135-2144, 2017.

WALLACE TC. Anthocyanins in cardiovascular disease. **Advances in Nutrition**, v. 2, 1-7, 2011. doi: 10.3945/an.110.000042.

YAMAGUCHI, KKL, PEREIRA, LFR, LAMARÃO, CV, LIMA ES, Da VEIGA-JUNIOR, VF. Amazon açai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, v. 179, 137-151, 2015.

ZHANG H, LIU R, TSAO R. Anthocyanin-rich phenolic extracts of purple root vegetables inhibit pro-inflammatory cytokines induced by H₂O₂ and enhance antioxidant enzyme activities in Caco-2 cells. **Journal of Functional Foods**, v. 22, 363-375, 2016. doi:10.1016/j.jff.2016.01.004.

Referências	Atividade biológica	Fenólicos Totais (FT) and Antocianinas (ACN)	Resultados
SCHULZ et al., 2017	Bioacessibilidades de compostos bioativos expostos à digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	FT: 79,98 mg/100 g (base seca) (antes da estimulação da digestão gastrointestinal) FT: 19,71 mg/100 g (base seca) (após estimulação da digestão gastrointestinal)	Minerais e compostos fenólicos iniciaram com teores de 1325,9 e 22,9 mg /100g respectivamente, e após digestão <i>in vitro</i> , os valores máximos foram de 556,7 and 14a43 mg/100g (base seca)
SCHULZ et al., 2015	Atividade antioxidante em 7 estágios diferentes de maturação dos frutos	ACN: 18,76 mg/100 g \pm 2,9 (1° estágio) para 634,26 mg/100 g \pm 195,02 (6° estágio) (base fresca)	Radicais DPPH foram maiores nos estratos nos estágios 5 ($3,5 \pm 0.5$ mg/mL) and 6 ($3,0 \pm 0.8$ mg/mL). FRAP também se apresentou em valores atividades nos mesmos estágios. FRAP e DPPH foram diretamente correlacionados com a

			processo de maturação dos frutos.
BORGES et al., 2013	Efeito antioxidante avaliado em cultura de células Vero	ACN: entre 91,52 e 236,19 mg/100 g (base seca)	Polpa desengordurada apresentou maior quantidade de antocianinas monoméricas totais e maior atividade antioxidante em comparação aos extratos com lipídios.
BICUDO; RIBANI; BETA, 2014	Propriedades antioxidantes	FT: entre 81,69 mg/g e 49,09 mg/g (base seca) ACN: entre 91,52 mg/100 g e 236,19 mg/100 g (base seca)	Valores encontrados para as medidas de atividade antioxidante, DPPH e ORAC, foram de 655,89 – 745,32 μ mol ET/g e 1,088.10 – 2,071.55 μ mol ET/g, respectivamente. Os autores consideram os frutos juçara novas fontes de antioxidantes.

CARDOSO et al., 2015a	Atividade antioxidante e peroxidação lipídica em indivíduos saudáveis	ACN: $2,033.7 \pm 28.1$ mg/dose Cianidina-3-glicosídeo: $102,9 \pm 4,0$ mg/dose (base fresca) Cianidina-3-rutinosídeo: $480,5 \pm 5,9$ mg/dose (base fresca)	Dose: 450 mL, dosagens sanguíneas antes e após 1 h, 2 h e 4 h, de ingestão única por indivíduos saudáveis. Interação significativa sobre peroxidação lipídica com diminuição deste marcador ao longo do tempo e efeito do tratamento sobre GPx.
INADA et al., 2015	Atividade antioxidante	FT: 1,783 mg/100 g Cianidina-3-glicosídeo: 425 ± 8 mg/100 g (base seca) Cianidina-3-rutinosídeo: $1,255 \pm 17$ mg/100 g (base seca)	Compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos frutos juçara
DE CASTRO et al., 2014	Efeito sobre o estresse oxidativo em tecido hepático e	ACN: 25,83 mg/g Cianidina-3-glicosídeo: 9,52 mg/g	Os ratos que receberam treinamento de exercício aeróbico moderado (grupos EXA e EX

	biomarcadores inflamatórios em ratos	Cianidina-3-rutinosídeo: 16,30 mg/g	groups) apresentaram diminuição significativa da atividade de SOD. Não houve efeito da dieta sobre SOD. Os parâmetros não alterados por dieta ou treinamento foram CT, triglicerídeos e HDL-c.
CARDOSO et al., 2015b	Potencial antioxidante e efeito sobre a dislipidemia e esteatose hepática em ratos	ACN: 301,4 mg/100 g (base seca)	Os grupos tratados com 2%, 6% e 10% de extrato de juçara e 2% de α -tocoferol acetate nas dietas apresentaram diminuição de CAT. Os grupos de animais que receberam 6% de extrato de juçara diminuíram atividade de SOD em comparação aos outros grupos. Grupo que recebeu 10% de juçara adicionada à dieta diminuiu as

			concentrações de LDL-c e triglicerídeos.
NOVELLO et al., 2015	Atividade antioxidante e antiaterogênica avaliadas <i>in vivo</i> (ratos) e <i>in vitro</i>	ACN: 25,83 g/kg (base seca) Cianidina-3-glicosídeo: 9,52 g/kg (base seca) Cianidina-3-rutinosídeo: 16,31 g/kg (base seca)	Os grupos que receberam juçara, 2% e 6%, apresentaram diminuição significativa das atividades antioxidantes de CAT e SOD quando comparados aos grupos controle positivo. Animais que receberam 6% de juçara adicionada nas dietas, diminuíram as concentrações de LDL-c e CT.
OYAMA et al., 2016	Efeito sobre a tolerância de glicose em ratos	Dados não apresentados	Os grupos de animais que receberam 0,5% de juçara nas dietas, melhoraram a resposta glicêmica.
MORAIS et al., 2014	Parâmetros metabólicos, efeito	ACN: 262,4 ± 8,6 (base fresca)	A prole, na qual as mães foram alimentadas com

	antiinflamatório e expressão de UCP-1	Cianidina-3-glicosídeo: $71,4 \pm 2,1$ mg/100g (base fresca) Cianidina-3-rutinosídeo: $191,0 \pm 6,5$ mg/100g (base fresca) FT: 415.1 ± 22.3 (base fresca) mg/100g	0,5% de extrato de juçara liofilizado apresentou diminuição a concentração de triglicerídeos, glicose sérica e ganho de peso. Ainda, o mesmo grupo apresentou aumento do marcador antiinflamatório IL-10 e aumentou a expressão da proteína desacopladora 1 (UCP-1) no tecido adiposo marrom.
FREITAS et al., 2017a	Efeito antioxidante, parâmetros metabólicos e efeito antiinflamatório	Cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, respectivamente mas não foram quantificadas	Grupos G3 (dieta commercial adicionada de 10% de polpa de juçara liofilizada) e G4 (dieta comercial com 10% de polpa de juçara liofilizada e desengordurada) diminuíram a peroxidação lipídica.G4

			apresentou diminuição nas atividades enzimáticas de CAT, GST e SOD, e ainda redução nas concentrações de CT. Ainda, G4 apresentou menor expressão de citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias.
FREITAS et al., 2017b	Efeitos antioxidante e tóxicos em tecidos cardíaco e renal em ratos <i>Wistar</i>	Dados não apresentados	Os principais resultados foram aumento significativo na atividade de CAT nos tecidos dos grupos de animais que receberam dieta de cafeteria adicionada de 5% e 10% de extrato de juçara liofilizado, e ainda 10% de extrato de juçara liofilizado e desengordurado. Não foi observado efeito sobre a

			peroxidação lipídica nos tecidos renal e cardíaco após intervenção com juçara.
FREITAS et al., 2016	Efeito de subprodutos dos frutos juçara (polpa liofilizada, polpa liofilizada desengordurada e óleo) sobre DHGNA induzida por dieta rica em gordura em ratos	FT (mg GAE/g) (base seca): 4,10 ± 0,13 (polpa liofilizada) 4,95 ± 0,07 (polpa liofilizada desengordurada) Antocianinas (mg GAE/g) (base seca): 2130 ± 114 (polpa liofilizada) 3121 ± 139 (polpa liofilizada desengordurada)	Os grupos que receberam polpa (desengordurada ou não) atenuaram esteatose e peroxidação lipídica tecidual, enquanto óleo não demonstrou mesmo efeito. O subproduto mais promissor pareceu ser a polpa liofilizada desengordurada, possivelmente pelo menor teor de lipídios e alto teor de antocianinas e polifenóis.
MORAIS et al., 2015	Efeito antiinflamatório em prole de ratas com mães alimentadas com extrato de juçara	ACN: 262,4 ± 8,6 (base fresca) Cianidina-3-glicosídeo: 71,4 ± 2,1 mg/100g(base fresca)	Adição de 0,5% de extrato de juçara adicionada à dietas de mães restaurou o conteúdo fecal de

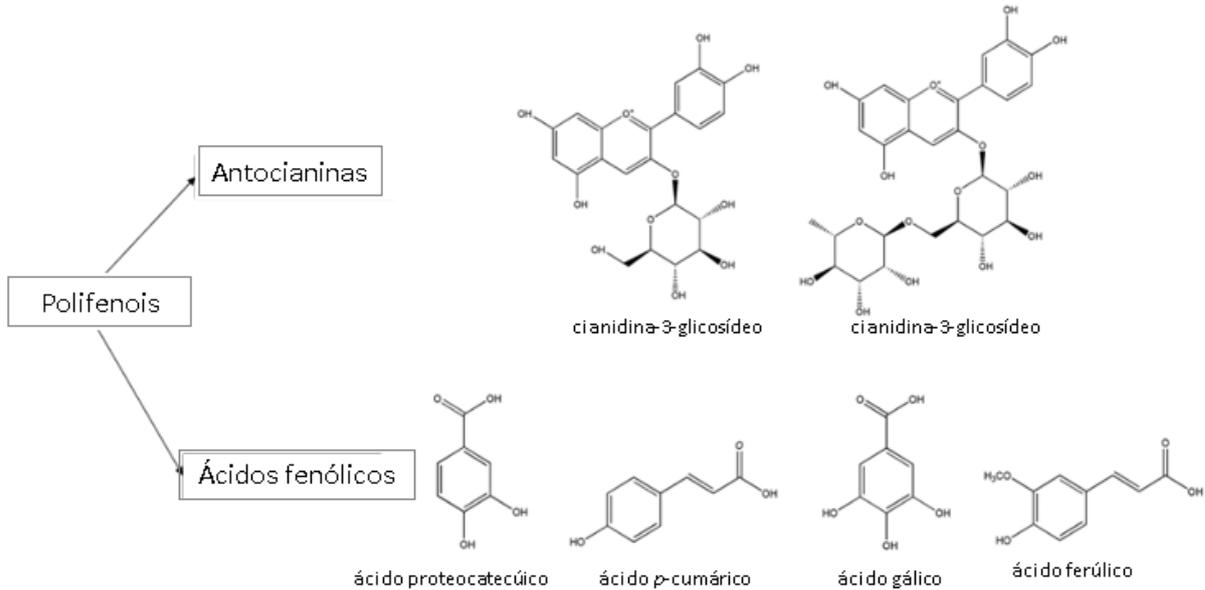
		<p>Cianidina-3-rutinosídeo: $191,0 \pm 6,5$ mg/100g (base fresca)</p> <p>FT: $415,1 \pm 22,3$ (base fresca) mg/100g</p>	<p>Bifidobacterium spp. E aumentou a expressão de RNAm de zônulas ocludentes (ZO-1) do colon. Ainda, o mesmo grupo diminuiu biomarcadores pró-inflamatórios e aumentou mediadores antiinflamatórios.</p>
MORAIS et al., 2014	<p>Efeito da suplementação de extrato de juçara em dieta materna sobre estado inflamatório, perfil lipídico e glicêmico da prole</p>	<p>Dados não apresentados</p>	<p>Os grupos (gestantes ou lactantes) de ratos que receberam dietas com 0,5% de extrat de juçara diminuíram biomarcadores pró-inflamatórios. Entretanto grupos que receberam juçara apresentaram maior teor de citocinas anti-inflamatórias em comparação aos grupos</p>

			controle. Ainda, grupos que receberam extrato de jucara diminuíram as concentrações de CT, triglicerídeos e glicose sérica.
GUERGOLETTTO et al., 2016	Fermentação <i>in vitro</i> pela microbiota colônica	FT: 3474 ± 98,0 mg/100 g (base seca) Cianidina-3-glicosídeo: 966 ± 54,9 mg/100 g (base seca) Cianidina-3-rutinosídeo: 322 ± 43,7 mg/100 g (base seca)	A microbiota intestinal foi modulada pela polpa de jucara, <i>in vitro</i> . A polpa de jucara foi capaz de modular a população de microorganismos e assim a produção de ácidos graxos de cadeia curta.
GERALDI et al., 2017	Adição de polpa de jucara e probiótico comercial (<i>Lactobacillus acidophilus</i>) em iogurte para avaliar a resistência do probiótico durante	Dados não apresentados	A polpa de jucara parece ser uma boa estratégia para a produção de iogurtes, aumentando a resistência do probiótico por até 14 dias armazenado, mesmo após o estímulo de condições

	armazenamento, após digestão gástrica e intestinal, <i>in vitro</i> .		gastrointestinais. Sugere-se com este estudo que os polifenóis em particular antocianinas, podem ter melhorado a viabilidade do probiótico.
--	---	--	---

Tabela 2 Estudos experimentais que investigaram o efeito da suplementação de *Euterpe edulis* no perfil lipídico

Authors	Modelo animal	Tempo	Concentração adicionada na dieta diet	HDL-colesterol	LDL-colesterol	Colesterol Total	Triglicerídeos
DE CASTRO et al., 2014	ApoE knockout	12 semanas	2%	Sem efeito	Não avaliado	Sem efeito	Sem efeito
CARDOSO et al., 2015b	ApoE knockout	75 dias	2% 6% 10%	Sem efeito Diminuiu Diminuiu	Sem efeito Sem efeito Diminuiu	Sem efeito Sem efeito Sem efeito	Diminuiu Diminuiu Diminuiu
NOVELLO et al., 2015	ApoE knockout	75 dias	2% 6%	Sem efeito Sem efeito	Diminuiu Diminuiu	Sem efeito Diminuiu	Sem efeito Sem efeito
OYAMA et al., 2016	Sem modelo específico	10 semanas	2%	Não avaliado	Não avaliado	Aumentou	Sem efeito
FREITAS et al., 2017 a	<i>Wistar (Rattus norvegicus)</i>	4 semanas	10%	Sem efeito	Sem efeito	Diminuiu	Sem efeito
MORAIS et al., 2014	<i>Wistar</i>	3 semanas	0.5%	Sem efeito	No evaluated	Diminuiu	Diminuiu
ARGENTATO et al., 2017	<i>Wistar</i>	3 semanas	0.5%	Sem efeito	No evaluated	Diminuiu	Diminuiu



Fonte: ChemDraw

Fig.2. Estruturas químicas dos principais compostos fenólicos presentes nos frutos juçara (*Euterpe edulis*)

4.2 MANUSCRITO 2: ARTIGO ORIGINAL

Atividade antioxidante e perfil metabólico de excreção de ácidos fenólicos após ingestão aguda do suco de juçara (*Euterpe edulis*)

Resumo

A palmeira juçara produz frutos esféricos e roxos, os quais são ricos em compostos fenólicos, especialmente antocianinas, e que podem originar uma polpa para consumo humano. O presente ensaio clínico objetivou avaliar a absorção e excreção dos principais compostos bioativos do suco de juçara no plasma e urina de dez indivíduos saudáveis que consumiram o suco de juçara, além do potencial antioxidante sérico em eritrócitos dos mesmos indivíduos. Amostras de sangue foram coletadas antes e após 0,5, 1, 2 e 4 horas do consumo único de 450 mL de suco de juçara, enquanto a urina foi coletada antes do consumo do suco e em intervalos de 0-3 e 3-6 horas após ingestão do suco. Não foram detectados compostos, antocianinas ou ácidos fenólicos em plasma. No entanto, na urina, oito compostos, dentre ácidos fenólicos e conjugados de ácidos fenólicos, foram identificados, sendo esses derivados da degradação de antocianinas (ácidos protocatecuico, vanílico glucuronidado, hipúrico, vanílico, hidroxibenzoico, hidroxifenilacético) e outros derivados propriamente do suco (kaempferol glucuronidado) e derivado do ácido ferúlico. A ingestão única do suco de juçara foi capaz de diminuir significativamente o estado oxidante total sérico após 0,5 hora comparado aos valores basais, com aumento significativo dos metabólitos de ácidos fenólicos excretados na urina ($p < 0,05$) entre o período de 0-3 horas. Este trabalho demonstra a possível relação entre a formação de metabólitos das antocianinas encontrados na urina e a atenuação do estado oxidante total sérico, fornecendo evidências do potencial antioxidante do suco em seres humanos.

Palavras-chaves: juçara, compostos fenólicos, antocianinas, ácidos fenólicos, atividade antioxidante

Introdução

A ingestão de frutas e vegetais tem sido inversamente associada com o desenvolvimento de doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, diversos tipos de câncer e doenças neurodegenerativas (CROWE et al., 2011; DEL RIO et al., 2013a; GUERRA et al., 2015; SLAVIN; LLOYD, 2012).

A palmeira *Euterpe edulis*, encontrada na Mata Atlântica, popularmente conhecida como juçara, produz frutos esféricos e de coloração roxa, os quais produzem polpa com características sensoriais e nutricionais muito similares ao açaí (*Euterpe oleracea*). É possível que a polpa produzida a partir dos frutos juçara seja chamada de açaí devido a relevância comercial desse nome, apesar de pertencerem a espécies diferentes de palmeiras (CHAIMSOHN; CHIQUETO, 2013). Estudo prévio afirmou que os frutos juçara apresentam em sua composição nutricional quantidade superior de compostos bioativos quando comparados ao açaí (SCHULZ et al., 2016). Ainda, a extração excessiva do palmito da palmeira juçara direcionou essa planta para seu atual risco de extinção. No entanto, ressalta-se que o consumo dos frutos estimula o cultivo e a preservação da espécie *Euterpe edulis*, de modo que a utilização dos frutos juçara na alimentação é considerada uma alternativa sustentável com relevância nutricional e econômica.

Estudos têm sugerido benefícios dos frutos juçara devido ao seu efeito antioxidante *in vitro* (BORGES et al., 2013) e *in vivo* por meio de estudos em modelos experimentais com animais (MARQUES CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015) e ensaio clínico com seres humanos (CARDOSO et al., 2015). Neste sentido, em ensaios experimentais com animais foram demonstrados potenciais benefícios sobre triglicerídeos (MARQUES CARDOSO et al., 2015), diminuição das concentrações de LDL-colesterol (MARQUES CARDOSO et al., 2015; NOVELLO et al., 2015), melhora da resposta glicêmica (OYAMA et al., 2016) e efeito prebiótico (GUERGOLETTO et al., 2016). Recentemente nosso grupo de pesquisa publicou um estudo de revisão sobre os efeitos biológicos dos frutos juçara associando-os a benefícios à saúde (CARDOSO et al., 2018).

Esses benefícios à saúde têm sido relacionados aos frutos juçara recentemente, especialmente devido ao seu perfil de compostos fenólicos, em particular pela presença das antocianinas e ácidos fenólicos (BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2016).

As antocianinas são associadas à proteção contra o estresse oxidativo, efeito anti-inflamatório e propriedades anticarcinogênicas

(HE; GIUSTI, 2010; NORBERTO et al., 2013; TSUDA, 2012). No entanto, a biodisponibilidade das antocianinas é considerada muito baixa, com contrações da sua forma intacta estimadas no plasma em nanomol ou nanograma e excreção urinária inferior a 0,1% (POJER et al., 2013; TSUDA, 2012). Desta forma, as antocianinas podem ser metabolizadas em ácidos fenólicos, os quais também podem ser responsáveis pelas propriedades biológicas associadas à ingestão de alimentos ricos em compostos fenólicos (CARDONA et al., 2013; TSUDA, 2012).

Esta conversão química das antocianinas em ácidos fenólicos pode ocorrer pela ação da microbiota intestinal (CZANK et al., 2013a; DE FERRARS et al., 2014). Desta forma, quando os ácidos fenólicos são considerados metabólitos das antocianinas, sua biodisponibilidade aumenta em torno de 12% (CZANK et al., 2013a; DE FERRARS et al., 2014).

Os ácidos fenólicos típicos gerados a partir da metabolização das antocianinas são os ácidos: protocatecuico (APC), siríngico (AS), vanílico (AV), hipúrico (AH), e gálico (AG) (KAY; KROON; CASSIDY, 2009). Além disso, os ácidos gálico, protocatecuico, p-cumárico, vanílico, ferúlico, clorogênico, cafeico e siríngico também são encontrados no fruto juçara (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015). Os ácidos fenólicos também apresentam propriedades bioativas e podem se relacionar com a prevenção de doenças (HELENO et al., 2015).

A avaliação da ingestão de alimentos ricos em compostos fenólicos, como os frutos juçara, pode aprimorar o conhecimento do impacto desses alimentos sobre fatores de risco para doenças crônicas e auxiliar no delineamento de pesquisas futuras. Porém, ressalta-se que ensaios clínicos em seres humanos investigando os efeitos da ingestão do suco de juçara são escassos, apesar de seu consumo e comercialização ser difundido. Previamente, a ingestão única do suco de juçara por indivíduos saudáveis promoveu atenuação de biomarcador de dano oxidativo e aumentou a atividade antioxidante sérica (CARDOSO et al., 2015). No presente estudo, espera-se expandir o conhecimento sobre os frutos juçara, avaliando a absorção e excreção de seus principais compostos bioativos e das antocianinas, em plasma e urina de indivíduos saudáveis, após ingestão única de 400 mL de suco.

Materiais e Métodos

Reagentes. Os seguintes materiais foram utilizados: 2,2'-azinobis-(3-ácido acético etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS), acetona, acetonitrila, ácido ítrico, (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), íon-o-dianisidina ferroso, reagente de fenol Folin–Ciocalteu, ácido fórmico, ácido gálico, ácido clorídrico, metanol, β -nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), padrões de fenólicos ultra-puros, 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,4-triazol (Purpald), acetato de sódio, kit para determinação de superóxido dismutase, 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) e 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico (Trolox), foram adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Ácido ascórbico, ácido bórico, cloreto férrico, sulfato ferroso, peróxido de hidrogênio, cloreto de potássio, carbonato de sódio, hidróxido de sódio e ácido sulfúrico foram obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil). Os padrões analíticos cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-3-*O*-rutinosídeo foram adquiridos da Extrasynthese (Genay, Lion, França). Os parâmetros avaliados ácido úrico, ureia, creatinina, atividade enzimática da aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, glicose sérica de jejum, colesterol total sérico, triglicerídeos e creatinina urinária foram obtidos Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil).

Caracterização do Suco de Juçara

Caracterização química do suco. O suco de juçara foi produzido por empresa especializada localizada no sul do Brasil. Alíquotas de 5 L foram disponibilizadas pela empresa sendo posteriormente divididas nas quantidades administradas no estudo. Os frutos juçara utilizados para o preparo do suco foram colhidos em Garuva (latitude: 26 ° 01 '36 "S, longitude: 48 ° 51 ' 18" W, altitude: 25 m), no Estado de Santa Catarina, Brasil, em novembro de 2015.

Os parâmetros químicos foram determinados seguindo os métodos recomendados pela Associação de Química Analítica Oficial (AOAC, 2005): o teor de umidade (925,09) foi determinado secando a amostra em estufa a 105 °C até atingir peso constante; o teor de proteína bruta (920,87) foi calculado a partir do teor de nitrogênio total de acordo com o método de Kjeldahl, utilizando fator de conversão de 6,25. Os lipídeos totais (920,85) foram determinados de acordo com o método de extração de Soxhlet.

Fenólicos Totais. O teor de fenólicos totais foi avaliado pelo método espectrofotométrico reativo de Folin-Ciocalteu (SINGLETON, 1965). Alíquota de 100 μL de suco de amostra foi adicionada em 4 mL de água deionizada, seguida da adição de 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5 mL de solução a 20% m/v de carbonato de sódio. O volume foi ajustado para 10 mL com água deionizada sendo homogeneizada em seguida. Após 2 h, a absorbância foi lida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (Spectro Vision, modelo SB1810-S - Pequim, China). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico 100 g^{-1} .

Antocianinas monoméricas totais. Antocianinas monoméricas totais (AMT) foram avaliadas pelo método diferencial de pH de acordo com Giusti e Wrolstad (2001). Alíquotas de juçara (0,2 mL) foram adicionadas em 1,8 mL de solução tampão de cloreto de potássio (0,025 M, pH 1,0) e acetato de sódio (0,4 M, pH 4,5), separadamente, com absorbância medida após 10 min na ausência de luz em comprimentos de onda de 515 e 700 nm.

O conteúdo do AMT foi calculado usando a equação:

$$\text{AMT} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{FD} \times 100}{\epsilon \times C},$$

Quando A = absorbância ($A_{515} - A_{700}$) pH 1.0 - ($A_{515} - A_{700}$) pH 4,5; PM = peso molecular da cianidina-3-*O*-glicosídeo ($449,2\text{ g mol}^{-1}$); FD = fator de diluição; ϵ = absorvidade molar da cianidina-3-*O*-glicosídeo (26900 mol L^{-1}); e C = concentração (mg mL^{-1}). AMT foram expressas em mg de equivalente de cianidina-3-*O*-glicosídeo 100 g^{-1} .

Atividade Antioxidante

Ensaio de estabilização de radicais DPPH. A atividade de estabilização de radicais DPPH foi baseada no método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A solução de trabalho foi obtida pela diluição da solução de DPPH com metanol para obter uma absorbância de cerca de 0,800 ($\pm 0,02$) a 515 nm usando um espectrofotômetro UV-Visível Spectro Vision SB 1810-60 S (Pequim, China). Uma alíquota de 2,9 mL desta solução foi misturada com 100 μL dos extratos em diferentes concentrações. A solução foi agitada em tubos e incubada por 30 min em temperatura ambiente no escuro. A inibição dos radicais livres de DPPH, em termos percentuais (I%), foi calculada da seguinte forma: % inibição =

$[1 - (\text{absorbância da amostra } t = 30 \text{ min}/\text{absorbância do controle } t = 0 \text{ min})] \times 100$.

Foi utilizada uma curva padrão, e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico equivalente 100 g^{-1} .

Potencial Antioxidante Redutor Férrico (FRAP do inglês *Ferric ion reducing antioxidant power*). A capacidade de redução foi determinada de acordo com o método descrito por Benzie e Strain (1996). O extrato ($200 \mu\text{L}$) e $200 \mu\text{L}$ de FeCl_3 (3 mmol L^{-1} em ácido cítrico 5 mol L^{-1}) foram misturados e incubados por 30 min em banho-maria a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Uma solução de TPTZ ($3,6 \text{ mL}$) foi então adicionada e misturada. A absorbância (620 nm) foi lida após 10 min em espectrofotômetro UV-Visível Spectro Vision SB 1810-60 S (Pequim, China). Os resultados foram expressos em mg de capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico e sulfato ferroso por 100 g^{-1} .

Preparação de amostras para análises em CLAE-DAD (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com com detector "diodearray" do inglês HPLC - *High-performance liquid chromatographic with detector Diode Array*). O suco de juçara foi diluído em água ultrapura (1:2 m/m) e centrifugado a 8000 g por 10 min a 4°C , sendo o sobrenadante utilizado para realizar a análise de caracterização do suco. As amostras foram extraídas duas vezes.

Análises em CLAE. As antocianinas foram identificadas e quantificadas por sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu LC-20AT, Kyoto, Japão) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD; Shimadzu, SPD-M20A, Kyoto, Japão) em coluna C18 de fase reversa ($150 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm DI}$) com tamanho de partícula de $5 \mu\text{m}$ (Supelco, Nucleosil, Bellefonte, PA, EUA). Utilizou-se gradiente binário com fase móvel alternada em A (metanol) e B (3% de ácido fórmico em água) com fluxo de programação de $1,0 \text{ mL/min}$. O volume injetado foi de $20 \mu\text{L}$ para todas as amostras e a detecção foi realizada a 520 nm .

Os picos identificados foram confirmados utilizando padrões autênticos de cianidina 3-*O*-glicosídeo e cianidina 3-*O*-rutinosídeo (Extrasynthese, Genay, Lyon, França), dissolvido em metanol acidificado (0,1% HCl). A quantificação foi realizada usando curvas de calibração.

Condições LC-ESI-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada ao Espectômetro de Massas com Ionização do tipo Elecspray (do inglês

Liquid chromatography - Electrospray tandem mass spectrometry). O conteúdo de compostos fenólicos (principalmente ácidos fenólicos) também foi determinado por cromatografia líquida - ionização por eletropulverização - espectrometria de massa em tandem (LC-ESI-MS/MS) em um sistema de 1200 HPLC (Agilent Technologies - Waldbronn, Alemanha) acoplado a um espectrômetro de massas quadrupolo híbrido de íon linear QTRAP® 3200 (Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord, Canadá) equipado com uma fonte de TurboIonSpray™ (electrospray-ESI). A separação foi realizada por uma coluna Synergi (tamanho de partícula de 4,6 µm, 150 mm, 2,0 mm). O gradiente de eluição em cromatografia líquida foi composto por fase móvel A (95% de metanol em água) e fase B (0,1% de ácido fórmico em água), sendo: 0-5 min, 10% de A; 5 a 7 min, 90% A; 7 a 10 min e 90% A; 10 a 17 min, 10% A. A taxa de fluxo foi de 250 µL / min e a análise foi realizada no modo iônico negativo, com a agulha capilar mantida a 4500 V. As condições dos parâmetros MS/MS foram gás de cortina, 10 psi; temperatura, 400 °C; gás 1,45 psi; gás 2,45 psi; e gás de dissociação ativada por colisão (CAD), médio. O conteúdo de compostos fenólicos foi expresso em mg por 100 g de matéria seca. A quantificação foi baseada em curvas de calibração usando padrões de fenólicos ultra-puros e as concentrações foram expressas em µmol e nmol.

Ensaio Clínico em Seres Humanos

Participantes. Dez voluntários, seis mulheres e quatro homens, com idade entre 23 e 30 anos (média de $26,11 \pm 2,62$ anos) e índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 29,9 kg/m² foram selecionados. As características físicas dos participantes são apresentadas na Tabela 1.

Os voluntários foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: não ser portador de patologias crônicas não transmissíveis, além de doenças endócrinas, gastrointestinais, renais ou hepáticas; não possuir infecções ou processos inflamatórios visíveis ou conhecidos nos últimos três meses do início do protocolo de estudo; não utilizar medicamentos ou suplementos alimentares, não fumar e não ingerir bebidas alcoólicas com regularidade. Além destes, os demais critérios foram: possuir IMC inferior a 30 kg/m² e não apresentar intolerância gástrica ou complicações relacionadas à ingestão do suco de juçara. Esses critérios foram avaliados por um questionário de história clínica elaborado pelo grupo de pesquisa.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina (número de protocolo 33131414.2.0000.0121)

e o termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os participantes antes do início do estudo.

Tabela 1 Características dos participantes do estudo

Parameters	Women (<i>n</i> = 6)	Men (<i>n</i> = 4)
Idade (anos)	27 ± 2,83	25 ± 2,16
Peso (kg)	57,04 ± 6,15	73,32 ± 8,18
Altura (cm)	1,66 ± 0,05	1,73 ± 0,05
IMC (kg/m ²)	20,67 ± 1,23	24,50 ± 1,50
% Massa gorda	29,48 ± 4,64	16,28 ± 3,45
% Massa livre de gordura	70,52 ± 4,64	83,73 ± 3,45

Dados estão expressos como média ± DP, *n* =10; IMC: Índice de Massa Corporal.

Desenho experimental *in vivo*. Os participantes foram orientados a seguirem uma dieta com baixo teor antioxidante nas 48 horas precedentes ao protocolo de pesquisa (KUNTZ et al., 2014 e adaptado por CARDOSO et al., 2015). O consumo alimentar foi monitorado nas 48 horas em registros alimentares. Os participantes também foram instruídos a não praticarem atividade física intensa e não se privarem de noite de sono nas 24 horas que antecederam o ensaio clínico.

Os participantes receberam 400 mL de suco de juçara após jejum de 12 h. Amostras de sangue (0, 30, 60, 120, 240 min) e de urina (linha de base, 0-3, 3-6 h) foram coletadas. O protocolo se baseou em evidências de que as antocianinas parecem ser rapidamente absorvidas e eliminadas em cerca de 4 horas (FERNANDES et al., 2014; KAY, 2006; LILA et al., 2016; POJER et al., 2013). Efeitos adversos não foram observados durante o protocolo de estudo.

O sangue dos participantes também foi coletado para avaliar biomarcadores de estresse oxidativo, perfis lipídico e glicêmico, funções hepática e renal para garantia da participação de voluntários saudáveis.

Avaliação antropométrica. As medidas de peso e altura foram utilizadas para o cálculo do IMC (FAO/WHO, 2010). A composição corporal foi avaliada usando equipamento de absorptometria de raios X de dupla energia (DXA, do inglês...) e software associado (DXA Lunar Prodigy). A partir da leitura do DXA foram estimadas de forma absoluta em quilogramas e percentuais o teor de gordura e massa livre de gordura, sendo apresentados na Tabela 1 os dados em percentuais.

Coletas de sangue e análises bioquímicas. O sangue foi coletado por profissional habilitado através de punção de veia intermediária através de um sistema de vácuo (Vacutainer-BD, São Paulo, SP, Brasil) utilizando tubos com e sem ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).

Para a separação de soro e plasma, os tubos foram centrifugados ($1000 \times g$, 15 min) a 4 °C. Os hemolisados de eritrócitos utilizados nas avaliações das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), glutatióna peroxidase (GPx) e catalase (CAT).

Os parâmetros bioquímicos foram medidos por colorimetria utilizando espectrofotômetro automático (Cobas Mira®, Diagnostic Roche, Basel, Suíça). Ácido úrico, uréia, creatinina, atividade enzimática de aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, glicose sérica de jejum, colesterol sérico total e triglicerídeos sérico foram avaliados por meio de kits (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil). A fração HDL-colesterol foi medida pelo método homogêneo e o LDL-colesterol foi calculado pela fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). A creatinina urinária também foi avaliada pelo kit Labtest (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

A capacidade antioxidante total (TAC, do inglês do inglês *Total Antioxidant Capacity*) foi avaliada seguindo o método automatizado de Erel, (EREL, 2004) que avalia a capacidade dos antioxidantes em neutralizar o cátion ABTS, originando um cromóforo com absorção máxima a 660 nm. Os resultados foram expressos como milimoles equivalentes de Trolox/L (mmol TE/L). O estado oxidante total (TOS) foi avaliado de acordo com o estudo de Erel (2005) a partir da avaliação da oxidação do complexo ferroso-o-dianisidina ao íon férrico pelos oxidantes da amostra. Os resultados são expressos em μmol de H_2O_2 Equiv/L adaptado de Erel (EREL, 2005)

As enzimas antioxidantes foram avaliadas em amostras de hemolisados de eritrócitos. A CAT catalisa a conversão de duas moléculas de H_2O_2 em oxigênio molecular e duas moléculas de água. O método baseia-se na reação da enzima com metanol na presença de H_2O_2 . Nesta reação é produzido formaldeído, que foi medido colorimetricamente com Purpald a 240 nm (JOHANSSON; BORG, 1988).

A enzima SOD é responsável pela dismutação do ânion superóxido em H_2O_2 e oxigênio molecular. Esta enzima foi medida kit (Sigma Aldrich) usando sal de tetrazólio, solução de trabalho, que produz um composto colorido solúvel em água. A taxa de redução do ânion

superóxido é linearmente relacionada à ação da xantina oxidase e é inibida pela SOD. Portanto, 50% de inibição da atividade da SOD pode ser determinada por um composto colorimétrico com absorvância a 450 nm.

A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathiona reduzida (GSH) originando glutathiona oxidada (GSSG) e produtos hidroperóxidos. A GPx foi avaliada pelo monitoramento da oxidação do NADPH na presença de H₂O₂ conforme descrito por Wendel (WENDEL, 1981). As enzimas antioxidantes foram medidas em hemolisados de eritrócitos de acordo com kit (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

Identificação de Metabolitos em Plasma e Urina

Preparação e extração de amostras Alíquota de plasma foi diluída com 1,5 mL de ácido oxálico (10 mM) e aplicada na coluna de C18 (0,3 g de LC-C18 Supelclean, Supelco, EUA), previamente condicionada com metanol e ácido oxálico (10 mM). Posteriormente a coluna foi lavada com ácido oxálico (10 mM) e eluída com metanol acidificado com 5% de TFA. O eluato foi rotaevaporado até *secura* à 40° C. O resíduo foi ressuspensionado com metanol acidificado com 5% de ácido acético e filtrado com membrana de 0,43µm tetraflouroetileno (Millipore, Bedford, MA).

A extração de compostos fenólicos da urina foi realizada utilizando-se placas de eluição Waters OASIS HLB (Milford, MA), que foram pré-condicionadas com 250 µL de metanol e 250 µL de ácido acético a 0,2%. No momento da coleta, as amostras foram acidificadas com ácido trifluoroacético. Alíquotas foram aplicadas nas colunas das placas e os compostos fenólicos foram eluídos usando metanol acidificado com 0,2% de ácido acético. O eluato foi seco por CentriVap Benchtop Vacuum Concentrators (Labconco, Kansas City, MO, EUA) e reconstituído com metanol acidificado com ácido acético a 5% e depois filtrado com filtro PTEF de 0,43 µm (Millipore, Bedford, MA, EUA). A quantificação foi feita por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Análise em CLAE. Os metabólitos exógenos presentes no plasma e urina foram identificados por LC-ESI-MS/MS utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência Infinity Quaternary LC System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo *ion trap Esquires-LC* (Bruker Daltonics, Billerica, MA) com ionização por *electrospray* (ESI), com quociente de vazão de 1 mL/min e

temperatura a 25 °C. A fase móvel consistiu em dois solventes: (A) 0,5% de ácido fórmico em água e (B) 0,5% de ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente utilizado foi de 10% (B) no início, 10% aos 5 min, 20% aos 15 min, 25% aos 25 min, 35% aos 33 min, 50% aos 38 min, 90% aos 43-44 min e 10% em 45 min. Antocianinas e outros compostos fenólicos foram detectados monitorando a eluição a 525 e 270 nm, respectivamente. A quantificação foi baseada em curvas de calibração usando os padrões comerciais de PCA, VA, ácido isovanílico (iVA), HA, ácido hidroxibenzóico (HBA) e ácido hidroxifenilacético (HPA). A quantificação foi baseada em padrões de curvas de calibração; as concentrações foram expressas em mmol/L.g⁻¹ µmol/L.g⁻¹ de creatinina em urina e os valores de eliminação foram expressos em µmol e nmol.

Análises por LC-ESI-MS/MS.

Os metabólitos exógenos foram identificados por LC-ESI-MS/MS usando Cromatógrafo Líquido Prominence (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa Esquires-LC (Bruker Daltonics, Billerica, MA) com uma interface de ionização por electrospray (ESI). A condição de cromatografia foi a mesma usada para quantificação por HPLC-DAD. Depois de passar pelo detector DAD, o fluxo foi alterado para 0,2 mL/min para injetar as amostras no espectrômetro de massa. ESI foi deixado em modo positivo para antocianinas e modo negativo para os outros compostos. A condição do espectrômetro de massas foi a energia de colisão 4500 e 4000 V para os modos positivo e negativo, respectivamente, e a temperatura capilar a 275 °C. A varredura de *m/z* foi de 100 a 1500. Os compostos foram identificados por meio da comparação dos tempos de retenção com padrões autênticos, quando possível, assim como pela similaridade do espectro de absorção, características espectrais de massa e comparação com a literatura.

Análises Estatísticas. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão (DP) ou erro padrão (EP). Mudanças relativas nos biomarcadores de estresse oxidativo foram calculadas nos dados pós-consumo em comparação com os valores basais para avaliar a diferença entre os valores iniciais e finais nestes marcadores ao longo das 4 h. A área sob a curva (AUC) foi calculada usando a Regra Trapezoidal. O teste de Kruskal-Wallis foi realizado para distribuições não paramétricas. As comparações entre os valores iniciais e finais intragrupos foram avaliadas pelo teste t ou Wilcoxon signed rank test. Os dados foram analisados na

versão Stata versão 11.0 em Windows (Stata Corporation, College Station, TX, EUA), considerando um nível de significância inferior a 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Composição química e capacidade antioxidante do suco de juçara.

A Tabela 2 apresenta a composição química e os principais compostos fenólicos encontrados no suco de juçara consumido por indivíduos saudáveis neste estudo. Os compostos fenólicos são metabólitos secundários das plantas e podem ser divididos em não-flavonoides e flavonoides (DEL RIO et al., 2013b). Os compostos não-flavonoides são considerados ácidos fenólicos e estilbenos, enquanto os flavonoides são representados pelo grupo das antocianinas, flavonóis, flavanonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas e flavan-3-ol (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Compostos não-flavonoides como os ácidos fenólicos e estilbenos; e, flavonoides como antocianinas, flavanonóis, flavonóis, estilbenos, flavan-3-ol e flavona foram detectados no suco de juçara. Além disso, a atividade antioxidante (ensaios de DPPH e FRAP) também foram avaliadas no suco estudado (Tabela 2).

Os ácidos fenólicos mais abundantes identificados em nosso estudo foram os ácidos protocatecúico, vanílico, ferúlico e cafeico, além desses também foram identificados os ácidos gálico, p-cumárico, clorogênico e siríngico. Todos os ácidos fenólicos encontrados já foram identificados por outros estudos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015).

Além dos flavonoides detectados nas amostras de juçara do estudo em questão, a rutina e quercetina já foram identificados em outras investigações (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES et al., 2013; DA SILVA CAMPELO BORGES et al., 2011; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2015). No presente estudo foram evidenciadas quantidades relevantes de kaempferol (Flavonol) e aromadendrina (Flavonol), corroborando com Schulz et al. (2015). Outros compostos identificados no suco de juçara no presente estudo foram taxifolina (Flavonol), resveratrol (Estilbenoide), catequina e epicatequina (Flavan-3-ols), também já

identificados por outras investigações (DA SILVA CAMPELO BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015).

É importante ressaltar que o perfil de compostos fenólicos presentes nos frutos juçara pode apresentar variabilidade de acordo com o grau de maturação do fruto, região de cultivo e condições climáticas (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES et al., 2013; SCHULZ et al., 2016).

Neste estudo, administrou-se 400 mL de suco de juçara, contendo 1494,4 mg de antocianinas. As duas principais antocianinas presentes no suco de juçara foram a cianidina 3-O-glicosídeo e cianidina 3-O-rutinosídeo, do mesmo modo que verificado em outros estudos (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; DA SILVA CAMPELO BORGES et al., 2011; DE CASTRO et al., 2014; GUERGOLETTTO et al., 2016; INADA et al., 2015; NOVELLO et al., 2015).

Tabela 2 Composição química, de compostos fenólicos e atividade antioxidante *in vitro* na porção servida de suco de juçara.

Components	mg/400 mL
Umidade	374.16
Cinzas	0.80
Proteínas	2.04
Lípídeos (extrato etéreo)	7.00
Ácidos fenólicos	
Ácido gálico	0.08
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico (ácido protocatecúico)	1.11
Ácido <i>p</i> -cumárico	0.10
Ácido vanílico	0.46
Ácido ferúlico	0.22
Ácido clorogênico	0.04
Ácido cafeico	0.40
Ácido siríngico	0.08
Flavanonol	
Taxifolina	0.36
Aromadendrina	1.21
Flavonol	
Rutina	0.01
Quercetina	0.04

Isoquercetina	0.03
Kaempferol	1.31
Estilbenoide	
Resveratrol	0.06
Aldeídos fenólicos	
Vanilina	0.02
Flavan-3-ols	
Catequina	0.35
Epicatequina	0.13
Flavona	
Apigenina	0.32
Antocianinas	
Antocianinas monoméricas totais (mg C3G) ^a	1494.4
Cianidina 3- <i>O</i> -glucosídeo	462.04
Cianidina 3- <i>O</i> -rutinosídeo	197.04
Capacidade Antioxidante	
DPPH (mg EAA/100g)	3739.64
FRAP (μmol ferrous sulfate/100g)	10,500.60

^a Valores são expressos em mg de cianidina-3-*O*-glucosídeo.

A capacidade antioxidante dos extratos de juçara tem sido investigada por diversos pesquisadores, sendo os parâmetros DPPH (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; DA SILVA CAMPELO BORGES et al., 2011; DEL RIO et al., 2013b; MARQUES CARDOSO et al., 2015; RUFINO et al., 2010; SCHULZ et al., 2015) e FRAP (BORGES et al., 2013; CARDOSO et al., 2015; INATA et al., 2015; MARQUES CARDOSO et al., 2015; RUFINO et al., 2010; SCHULZ et al., 2015; VIEIRA et al., 2013) os mais estudados.

No presente estudo, o suco de juçara apresentou 697,3 μmol de sulfato ferroso/100g para o método FRAP e 248,3 μmol de equivalente de ácido ascórbico/100g para o método DPPH, demonstrados em base seca. A capacidade antioxidante avaliada pelo método FRAP denotou valor inferior quando comparada ao estudo de Borges e colaboradores (2013), o qual evidenciou valor de 1158,0 μmol , e próxima do estudo de Bicudo et al. (2014), o qual denotou valor de FRAP de 745,3 μmol em equivalente de Trolox /100g de base seca.

Identificação de ácidos fenólicos e parâmetros farmacocinéticos da população estudada. De acordo com nosso conhecimento, até o momento este é o primeiro estudo a demonstrar a metabolização de compostos bioativos do suco de juçara em seres humanos. A Tabela 3 mostra os metabólitos dos flavonoides e ácidos fenólicos detectados em amostras de urina de indivíduos saudáveis após a ingestão única do suco de juçara.

No presente estudo, as antocianinas não foram detectadas no plasma ou urina. Isso possivelmente deve-se ao fato que a biodisponibilidade das antocianinas é considerada muito baixa, com apenas traços de quantidade (em torno de <0,1%) identificados na corrente sanguínea em humanos (FANG, 2014; LILA et al., 2016).

Tabela 3 Ácidos fenólicos identificados nas amostras de urina em indivíduos saudáveis por CLAE-ESI-MS/MS após ingestão do suco de juçara.

Compostos Identificados (modo negativo)	TR (min)	[M-H]⁺ (m/z)	MS² (m/z)
Ácido protocatecúico ^a	7,6	153	109
Ácido vanílico glucuronidado	8,4	343	167
Ácido hipúrico ^a	13,6	178	134
Ácido vanílico ^a	14,2	167	–
Ácido hidroxibenzóico ^a	12,0	137	–
Ácido hidroxifenilacético ^a	12,8	151	–
Kaempferol glucuronidado	14,3	463	287
Ácido ferúlico derivado	23,6	336	193/175

^a Compostos identificados foram confirmados com padrões comerciais. TR, tempo de retenção; MS: do inglês mass spectrometry; m/z: do inglês mass-charge ratio.

Além disso, a absorção e excreção das antocianinas depende de vários fatores, os quais podem influenciar em sua metabolização, como a matriz alimentar que está inserida (YANG et al., 2011), a variabilidade interindividual (CZANK et al., 2013b; MILBURY; VITA; BLUMBERG, 2010) e a composição da microflora intestinal (DE FERRARS et al., 2014).

No presente estudo, os principais metabólitos de antocianinas excretados foram os ácidos fenólicos. É reconhecido que as

antocianinas não absorvidas podem ser metabolizadas pela microbiota intestinal, sendo primeiramente desglicosiladas e posteriormente degradadas em ácido fenólicos (DEL RIO et al., 2013b; FANG, 2014).

Em nosso estudo, ao total, oito compostos, dentre ácidos fenólicos e seus conjugados, foram identificados na urina: ácidos protocatecúico (m/z 153), hipúrico (m/z 178), hidroxibenzoico (m/z 137), hidroxifenilacético (m/z 151), vanílico (m/z 167), vanílico/vanílico glucuronidado (VA gluc) (m/z 343), ferúlico derivado (FAD) (m/z 336) e kaempferol glucuronidado (m/z 463).

Os parâmetros farmacocinéticos avaliados (concentrações máximas, C_{max} ; tempo, t_{max} ; e área abaixo da curva, AUC) até 6 h após a ingestão do suco de juçara são apresentados na Tabela 4 para os ácidos fenólicos quantificados (protocatecúico, hipúrico, hidroxibenzoico, hidroxifenilacético, vanílico, vanílico glucuronidado e kaempferol glucuronidado).

Considerando os resultados encontrados, apenas os ácidos protocatecúico e o hidroxifenilacético tiveram seus picos máximos de concentração na urina entre 0-3 após a ingestão do suco de juçara; os demais metabólitos apresentaram variação entre os indivíduos nos picos de concentrações entre 3-6 h após a ingestão. Além disso, como demonstrado na Figura 1, as concentrações médias dos metabólitos avaliados na urina em 0-3 e 3-6 h após a ingestão de suco de juçara para os 10 indivíduos não evidenciaram variações significativas entre elas, mas foram significativamente maiores quando comparadas ao tempo 0. Ainda, os metabólitos encontrados em concentrações máximas na urina após o consumo de suco de juçara foram ácido hipúrico e ácido hidroxifenilacético.

Tabela 4 Parâmetros farmacocinéticos dos ácidos fenólicos detectados na urina de 10 voluntários saudáveis após ingestão única do suco de juçara.

Metabolites	C_{max} (mmol/mmol)	t_{max} (h)	AUC (mmol/h)
Protocatecúico	282.65 ± 36.17	0-3	1127.68 ± 214.48
Vanílico	201.33 ± 22.73	0-6	820.42 ± 118.86
Vanílico glucuronidado	167.36 ± 13.30	0-6	683.66 ± 71.74
Hidroxibenzoico	230.41 ± 27.99	0-3	1091.55 ± 167.35

Hipúrico	6057.98 ± 757.4 0	0–6	24962.61 ± 5630.47
Hidroxifenilacético	3340.91 ± 467.9 5	0–6	15772.92 ± 2921.45
Kaempferol glucuronidado	136.16 ± 18.90	0–6	580.90 ± 95.80

C_{\max} : concentração máxima; t_{\max} : tempo de alcance da C_{\max} ; AUC: área sob a curva (0–6 h);

O ácido hipúrico pode ser formado pela conjugação de uma molécula de glicina de anel benzênico (DE FERRARS et al., 2014), a qual pode ter sido fornecido pelos compostos fenólicos presentes no suco de juçara, como os ácidos vanílico e protocatecúico. No entanto, o anel benzênico também pode ser fornecido por outros compostos presentes na dieta. Contudo, devido ao aumento da concentração do ácido hipúrico após a ingestão do suco de juçara, possivelmente sua origem é decorrente do suco, o qual foi ingerido após jejum dos participantes. Ainda, alguns metabólitos de flavonóis podem gerar ácidos benzóicos e ácido fenilacético, os quais são precursores do ácido hipúrico (GONZÁLEZ-BARRIO et al., 2010). Já o ácido hidroxifenilacético pode ser originário da cianidina e delphinidina presentes no suco (URMI et al., 2009).

A produção de ácidos fenólicos relaciona-se com a metabolização das antocianinas pela microbiota intestinal. Desta forma, considerando que os ácidos protocatecúico e vanílico foram encontrados precocemente nas amostras de urina, possivelmente esses achados associam-se à degradação espontânea da cianidina-3-O-glicosídeo em pH neutro do intestino delgado e da circulação (DE FERRARS et al., 2014; LUDWIG et al., 2015)

Ainda, a presença de ácido protocatecúico e suas formas metiladas – livre (ácido vanílico) e conjugada (ácido vanílico glucuronidado) – também indicam a ingestão de antocianinas e ácidos fenólicos presentes no suco, sendo considerados metabólitos típicos da cianidina-3-O-glicosídeo (CZANK et al., 2013b; VITAGLIONE et al., 2007).

No entanto, ressalta-se que os ácidos fenólicos protocatecúico e ferúlico, identificados na urina, podem ter sido originados ainda sem qualquer metabolização, haja vista a identificação desses no suco. Além disso, encontrou-se quantidade relevante de kaempferol no

suco, o que pode explicar a identificação do kaempferol glucuronidade na urina.

Outra explicação para a conversão de compostos fenólicos presentes no suco em metabólitos excretados na urina é que o ácido cafeico e o ácido clorogênico podem ser convertidos em ácidos ferúlico e isoferúlico, após a ação da enzima catecol-O-metiltransferase (COMT) (STALMACH et al., 2009). Uma vez que os ácidos ferúlico e isoferúlico são submetidos à Fase I do metabolismo – reações realizadas pelo fígado com o objetivo de inserir grupos funcionais em moléculas a fim de deixá-las mais hidrossolúveis e fáceis de serem excretadas - o ácido dihidroferúlico pode ser produzido e transformado em ácido vanílico (LUDWIG et al., 2015), o qual foi identificado na urina. Ainda, o ácido cafeico pode ser convertido em ácido dihidrocafeico, o qual pode gerar o ácido 3,4-ácido di-hidroxifenilacético (LUDWIG et al., 2015), também identificado nas amostras de urina dos indivíduos avaliados.

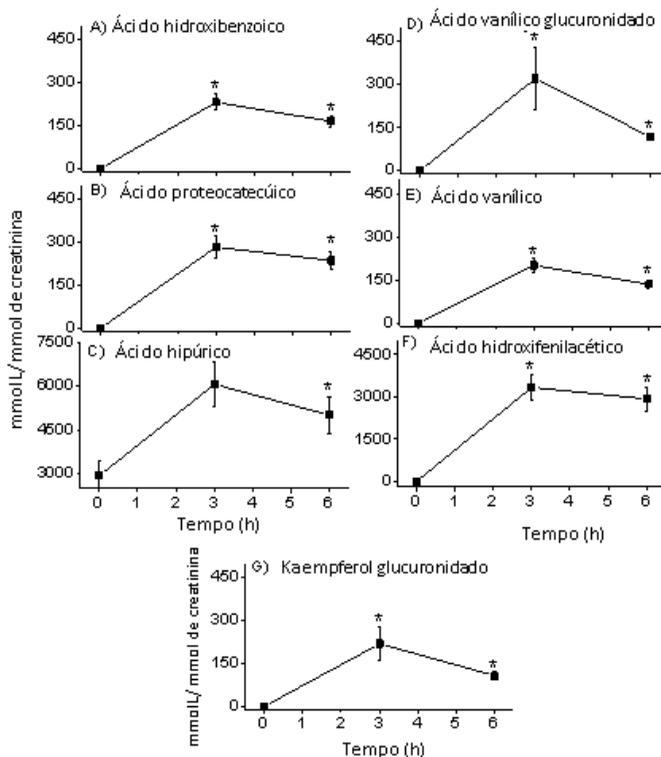


Figura 1 Concentração de ácidos fenólicos e metabólitos quantificados na urina de dez voluntários após o consumo único do suco de juçara (400 ml/ 1494,4 mg de antocianinas) (dados expressos em média e erro padrão da média, * p Valores <0,05, ANOVA one-way em relação ao tempo 0, n = 8 –10).

McKay et al. (2015) evidenciaram os ácidos hidroxifenilacético e protocatecúico como os principais biomarcadores da ingestão de suco de cranberry na urina, sendo o ácido 3,4-hidroxifenilacético também detectado. Corroborando com outros autores, o ácido hidroxibenzoico também foi identificado como metabólito da antocianina (VITAGLIONE et al., 2007). Segundo Fang (2014), os ácidos protocatecúico e 4-hidroxibenzoico podem ser associados aos benefícios à saúde e são amplamente relacionados às antocianinas.

Catequina e epicatequina não foram detectadas no plasma ou urina. Resultado semelhante foi observado por Feliciano e colaboradores (2016) ao avaliarem a absorção e excreção de

polifenóis em homens jovens e saudáveis após a ingestão do suco de cranberry.

Ressalta-se que o presente estudo utilizou padrões autênticos sem tratamento enzimático nas amostras, permitindo mais detalhes sobre a absorção, excreção e a quantificação de metabólitos em sua forma intacta sem a subestimação devido à hidrólise parcial (FELICIANO et al., 2016).

Considerando a capacidade antioxidante avaliada no soro e em eritrócitos de indivíduos saudáveis após ingestão única do suco de juçara, a Figura 2 mostra as mudanças relativas na atividade antioxidante e oxidante, avaliadas por TAC, TOS, CAT, GPX, SOD e ácido úrico. Antioxidantes atuam estabilizando espécies reativas e seus danos em tecidos ou fluídos biológicos. Para avaliar com precisão a capacidade antioxidante no soro e em eritrócitos, diferentes parâmetros foram avaliados. As enzimas SOD, CAT e GPx quando avaliadas em conjunto tornam-se relevantes parâmetros para analisar o estado antioxidante e o sistema de defesa (DEL BO et al., 2015).

Nosso grupo de pesquisa foi pioneiro no estudo e avaliação do efeito antioxidante do suco de juçara sobre biomarcadores antioxidantes endógenos e peroxidação lipídica em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015). A partir deste primeiro estudo, surgiram especulações sobre quais seriam os compostos bioativos presentes nos frutos juçara responsáveis por esta melhora da capacidade antioxidante demonstrada. Assim sendo, o presente estudo demonstra pela primeira vez a metabolização dos principais antioxidantes contidos no fruto juçara, o que vem complementar a pioneira e anterior publicação.

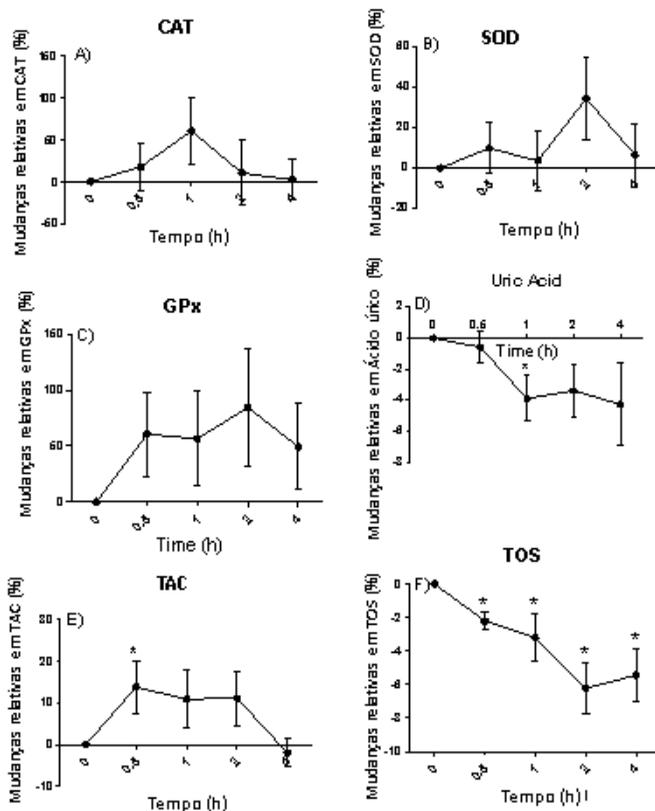


Figura 2 Mudanças relativas nos parâmetros séricos e eritrocitários de CAT, catalase (A); SOD, superóxido dismutase (B); GPx, glutatona peroxidase (C); Ácido Úrico (D); TAC, capacidade antioxidante total, (E); TOS, estado oxidante total, (F); após ingestão de suco de juçara (400 ml/ 1494,4 mg de antocianinas) (dados expressos em média e erro padrão da média, * valores de $p < 0,05$, ANOVA *one-way* comparada ao tempo 0, $n = 8-10$).

As enzimas antioxidantes avaliadas nos eritrócitos aumentaram suas atividades de acordo com as mudanças relativas na primeira hora para CAT e na segunda hora para SOD e GPx, sem alterações significativas. Considerando a capacidade antioxidante avaliada (TAC), observou-se aumento após 0,5h, 1h e 2h em relação ao valor basal, porém essas mudanças não foram significativas. Já as

comparações com o tempo zero (T0), mostraram que o suco de juçara foi capaz de diminuir significativamente o parâmetro de dano oxidativo (TOS) após 0,5, 1 e 2 h, do mesmo modo que observado em resultados publicados anteriormente, os quais demonstraram que o consumo de suco de juçara diminuiu significativamente a peroxidação lipídica em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015).

As atividades enzimáticas de CAT, SOD e GPx, embora não tenham demonstrado significância, apresentaram picos de atividade entre 1 e 2 h após a ingestão do suco de juçara, o que coincide com o aumento da excreção dos ácidos fenólicos identificados na urina coletada entre 0 a 3 horas após o consumo do suco.

Alguns autores sugerem que os benefícios de alimentos ricos em antocianinas são associados aos metabólitos das antocianinas, como os ácidos fenólicos. Entre esses benefícios está o aumento da capacidade antioxidante sérica (CARDONA et al., 2013; TSUDA, 2012; VITAGLIONE et al., 2007). Além disso, Fernandes e colaboradores (2014) sugerem que os benefícios de frutos ricos em antocianinas podem estar relacionados com a liberação constante dos compostos fenólicos por meio da circulação intestinal e sanguínea.

De acordo com uma revisão recente sobre os efeitos biológicos relacionados aos frutos juçara, o efeito da intervenção com estes frutos ou seus subprodutos, sobre enzimas antioxidantes, ainda permanece controverso (CARDOSO et al., 2018). Estudos experimentais em animais demonstraram diminuição na atividade de enzimas antioxidantes como SOD e CAT, (MARQUES CARDOSO et al., 2015; FREITAS et al., 2017; NOVELLO et al., 2015), enquanto outros estudos relataram aumento na atividade enzimática tecidual de CAT em modelos animais (DE BARRIOS FREITAS et al., 2017) e GPx eritrocitária em ensaio clínico com seres humano saudáveis (CARDOSO et al., 2015).

Segundo Del Bo e colaboradores (2015), em revisão acerca do efeito de frutos ricos em antocianinas sobre biomarcadores de estresse oxidativo, ensaios clínicos com estes tipos de frutos demonstram que a modulação de enzimas antioxidantes endógenas parece permanecer incerta, uma vez que trabalhos evidenciam aumento nestas atividades e outros não expressam resultados significativos.

Considerando ensaios clínicos com ingestão única de frutas ricas em antocianinas dez adultos saudáveis consumiram 237 mL (188,5 mg de fenólicos) de suco de cranberry, e isso promoveu o aumento da capacidade antioxidante sérica (avaliada por FRAP) com atividade máxima em 30 min e em 6h após ingestão, o que ocorreu

possivelmente pela absorção dos compostos fenólicos do suco de cranberry, segundo os autores (MCKAY et al., 2015).

Heinrich e colaboradores (2013) investigaram o efeito do consumo de *berries* frescos por uma semana (165 g/dia; 208 mg/dia de antocianinas), em dez voluntários saudáveis. A intervenção não influenciou as atividades de TAC sérica, GSH, glutathiona redutase e SOD nos eritrócitos. No entanto, houve aumento significativo nas atividades de GPx e CAT em eritrócitos (HEINRICH et al., 2013).

Conclusão

O presente estudo forneceu de forma inédita evidências sobre a absorção e excreção de compostos fenólicos após a ingestão de suco de juçara por voluntários saudáveis. Os resultados mostraram que o consumo do suco leva à produção de metabólitos típicos da degradação de antocianinas na urina (ácido protocatecúico, ácido hipúrico e ácido hidroxifenilacético). Além disso, a ingestão de suco de juçara modulou a proteção antioxidante pela atenuação de marcador de dano oxidativo.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse a ser declarado.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 - concessão de bolsa de estudos e pelo fomento que suporta o Programa de Pós Graduação em Nutrição – CAPES-PROAP, à empresa brasileira Duas Rodas pelo fornecimento das amostras de suco de juçara, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo fomento (Edital Universal MCT / CNPq 14/2012, número 483929 / 2012-3) e bolsa de iniciação científica em nível de graduação (Pibic/CNPq), e à Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) (2013/07914-8). Por fim, agradecemos também aos voluntários da pesquisa e ao apoio do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Referências

BARBOSA, P. O. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 674–680, 2016.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.12.030>>

BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Juçara Fruits (*Euterpe edulis* M.)

Along the On-tree Ripening Process. **Plant Foods for Human**

Nutrition, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 142–147, 2014.

BORGES, G. D. S. C. et al. 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**,

[s. l.], v. 51, n. 1, p. 363–369, 2013. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.035>>

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

Science and Technology, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. Disponível

em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800>

085>

CARDONA, F. et al. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, [s.

l.], v. 24, n. 8, p. 1415–1422, 2013. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.05.001>>

CARDOSO, A. L. et al. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of**

Functional Foods, [s. l.], v. 17, p. 152–162, 2015. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464615002522>>

CARDOSO, A. L. et al. An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara) Authors Chemical Characterization. **Planta**

Medica, v. 84, n. 8, 487-499, 2018.

CHAIMSOHN, P. F.; CHIQUETO, N. C. The legal mark for the production of juçara açai: contributions of the “interstate workshop

about legislation, selling and marketing for exploration of fruits of juçara palm”. **Revista Conexão UEPG**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 244–253, 2013.

CROWE, F. L. 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. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 32, n. 10, p. 1235–1243, 2011.

CZANK, C. et al. Human metabolism and elimination of the anthocyanin , cyanidin-3-glucoside : a 13 C-tracer study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 97, p. 995–1003, 2013. a.

CZANK, C. et al. Human metabolism and elimination of the anthocyanin , cyanidin-3-glucoside : a 13 C-tracer study 1 – 3. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 97, p. 995–1003, 2013. b.

DA SILVA CAMPELO BORGES, G. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, [s. l.], v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.006>>

DE BARRIOS FREITAS, R. et al. *Euterpe edulis* effects on cardiac and renal tissues of Wistar rats fed with cafeteria diet. **Nutrición Hospitalaria**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 186, 2017. Disponível em: <<http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/996>>

DE CASTRO, C. A. et al. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 112, n. 03, p. 285–294, 2014. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S000711451400083X>

DE FERRARS, R. M. et al. The pharmacokinetics of anthocyanins and their metabolites in humans. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 171, n. 13, p. 3268–3282, 2014.

DEL RIO, D. et al. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against

Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, [s. l.], v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013. a. Disponível em:
<<http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2012.4581>>

DEL RIO, D. et al. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & redox signaling**, [s. l.], v. 18, n. 14, p. 1818–92, 2013. b. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22794138%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3619154&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>

EREL, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. **Clinical Biochemistry**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 112–119, 2004.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, [s. l.], v. 38, n. 12, p. 1103–1111, 2005.

FANG, J. Some anthocyanins could be efficiently absorbed across the gastrointestinal mucosa: Extensive presystemic metabolism reduces apparent bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 18, p. 3904–3911, 2014.

FAO/WHO. **Report of the joint FAO / WHO expert consultation on the risks and benefits of fish consumption**. [s.l.: s.n.]. v. FIPM/R978

FELICIANO, R. P. et al. Identification and quantification of novel cranberry-derived plasma and urinary (poly)phenols. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 599, p. 31–41, 2016.

FERNANDES, I. et al. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 54–66, 2014.

FORMAN, H. J.; DAVIES, K. J. A.; URSINI, F. How do nutritional antioxidants really work: Nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 66, p. 24–35, 2014. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.045>>

FREITAS, R. B. et al. *Euterpe edulis* extracts positively modulates the redox status and expression of inflammatory mediators. **Food and Agricultural Immunology**, [s. l.], v. 0105, n. August, p. 1–13, 2017.

Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540105.2017.1360255>>

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S.

Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

GONZÁLEZ-BARRIO, R. et al. Bioavailability of anthocyanins and ellagitannins following consumption of raspberries by healthy humans and subjects with an ileostomy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 7, p. 3933–3939, 2010.

GUERGOLETTA, K. B. et al. In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 196, p. 251–258, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.048>>

GUERRA, J. F. da C. et al. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 14, p. 192–202, 2015.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.025>>

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 163–187, 2010. Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.food.080708.100754>>

HEINRICH, J. et al. Metabolic profiling of phenolic acids and oxidative stress markers after consumption of *Lonicera caerulea* L. Fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 19, p. 4526–4532, 2013.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**,

[s. l.], v. 17, p. 422–433, 2015. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>

JOHANSSON, L. H.; BORG, L. a. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical biochemistry**, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 331–6, 1988. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3064653>>

KAY, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. **Nutrition Research Reviews**, [s. l.], v. 19, n. 01, p. 137, 2006. Disponível em:
<http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0954422406000114>

KAY, C. D.; KROON, P. A.; CASSIDY, A. The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. **Molecular Nutrition and Food Research**, [s. l.], v. 53, n. SUPPL. 1, p. 92–101, 2009.

LILA, M. A. et al. Unraveling Anthocyanin Bioavailability for Human Health. **Annual Review of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 375–393, 2016. Disponível em:
<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-041715-033346>>

LUDWIG, I. A. et al. New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 89, p. 758–769, 2015. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.400>>

MARQUES CARDOSO, L. et al. Chemical Composition, Characterization of Anthocyanins and Antioxidant Potential of Euterpe Edulis Fruits: Applicability on Genetic Dyslipidemia and Hepatic Steatosis in Mice. **Nutr Hosp**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 702–709, 2015.

MCKAY, D. L. et al. Flavonoids and phenolic acids from cranberry juice are bioavailable and bioactive in healthy older adults. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 168, p. 233–240, 2015. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.062>>

MERTENS-TALCOTT, S. U. et al. Pharmacokinetics of anthocyanins and antioxidant effects after the consumption of anthocyanin-rich açai

juice and pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in human healthy volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 17, p. 7796–7802, 2008.

MILBURY, P. E.; VITA, J. a; BLUMBERG, J. B. Anthocyanins are bioavailable in humans following an acute dose of cranberry juice. **The Journal of nutrition**, [s. l.], v. 140, p. 1099–1104, 2010.

NORBERTO, S. et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 1518–1528, 2013.

NOVELLO, A. A. et al. Chemical characterization, antioxidant and antiatherogenic activity of anthocyanin-rich extract from *euterpe edulis* mart. In mice. **Journal of Food and Nutrition Research**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 101–112, 2015.

OYAMA, L. M. et al. Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 8, 2016. Disponível em:
<<http://www.dmsjournal.com/content/8/1/8>>

POJER, E. et al. The case for anthocyanin consumption to promote human health: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 483–508, 2013.

RUFINO, M. do S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>>

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Chocolate: Modern Science Investigates an Ancient Medicine. **Journal of Medicinal Food**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 121–125, 2000. Disponível em:
<<http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/109662000416311>>

SCHULZ, M. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, [s. l.], v. 77, p. 125–131, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.006>>

SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, [s. l.], v. 89, p. 14–26, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.027>>

SINGLETON, V. L. Colorunetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Amer. J. Enol. Viticult.**, [s. l.], v. 16, p. 144–58, 1965.

SLAVIN, J.; LLOYD, B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. **Advances in Nutrition**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 506–516, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3649719/>>

STALMACH, A. et al. Metabolite profiling of hydroxycinnamate derivatives in plasma and urine after the ingestion of coffee by humans: Identification of biomarkers of coffee consumption. **Drug Metabolism and Disposition**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 1749–1758, 2009.

TSUDA, T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. **Molecular Nutrition and Food Research**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 159–170, 2012.

URMI, T. A. N. et al. Metabolism of Berry Anthocyanins to Phenolic Acids in Humans. [s. l.], p. 2274–2281, 2009.

VIEIRA, G. S. et al. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 119, n. 2, p. 196–204, 2013.

VITAGLIONE, P. et al. Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides. **The Journal of nutrition**, [s. l.], v. 137, n. April, p. 2043–2048, 2007.

WENDEL, A. Glutathione Peroxidase. **Methods in Enzymology**, [s. l.], v. 77, n. C, p. 325–333, 1981.

YANG, M. et al. Food matrix affecting anthocyanin bioavailability: review. **Current medicinal chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 291–300, 2011.

4.3 MANUSCRITO 3: ARTIGO ORIGINAL

Atividade antioxidante após ingestão aguda de suco de açaí e juçara em indivíduos saudáveis

* Este manuscrito será submetido após a defesa.

Resumo

A palmeira *Euterpe edulis*, conhecida como juçara, produz frutos esféricos e roxos, semelhantes aos das palmeiras *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatória*, as quais originam o açaí. O açaí é amplamente estudado por suas propriedades nutricionais, no entanto, alguns autores observaram que os frutos juçara apresentam maior concentração de compostos bioativos do que os frutos que produzem açaí. O objetivo deste ensaio clínico cruzado foi analisar os compostos fenólicos dos sucos de juçara e açaí e seus efeitos na defesa de biomarcadores de oxidação, bem como antioxidantes não enzimático e enzimáticos, após a ingestão aguda dos sucos e bebida controle. Onze voluntários saudáveis participaram do estudo. Amostras de sangue foram coletadas antes, 1 e 2 h após a ingestão das intervenções, suco de juçara, suco de açaí e bebida controle (água) para medir o estado oxidante total (TOS, do inglês *total oxidant status*), capacidade antioxidante total (TAC, do inglês *total antioxidant capacity*), glutationa peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Análise de Variância de Medidas Repetidas evidenciou interação significativa entre tempo e tratamento para o desfecho de dano oxidativo TOS, enquanto análises intragrupos demonstraram que os sucos de juçara e açaí foram capazes de atenuar TOS nos dois momentos avaliados após ingestão, 1 hora (no limite da significância para juçara, $p = 0,05$ e $p < 0,01$ para açaí, respectivamente) e após 2 horas ($p < 0,01$ e $p < 0,00$, respectivamente). Os sucos ricos em compostos fenólicos foram capazes de atenuar biomarcador de dano oxidativo, conferindo proteção antioxidante em indivíduos saudáveis, enquanto o mesmo não foi demonstrado para bebida controle. Com isso, mais ensaios clínicos são encorajados para avaliar os efeitos clínicos da ingestão do suco de juçara e açaí, considerando o potencial efeito antioxidante destas bebidas em seres humanos.

Palavras-chaves: Juçara; *Euterpe edulis*; Açaí; *Euterpe oleracea*; Antioxidant.

Introdução

Estudos demonstram que o consumo regular de frutas pode promover efeito protetor ao organismo por prevenir o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. Isto ocorre especialmente pela presença de compostos antioxidantes nas frutas, com destaque para os polifenóis (CROWE et al., 2011; SPENCER; CROZIER, 2012; DEL RIO et al., 2013; BARBOSA et al., 2016; PALA et al., 2018).

Antioxidantes são moléculas que protegem um alvo biológico contra danos oxidativos. O sistema de defesa antioxidante é dividido entre antioxidante endógeno, como as enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx), além de antioxidantes não enzimáticos, como ácido úrico e glutatona reduzida; e antioxidante exógeno, o qual deve ser obtido por meio da dieta, como vitaminas e compostos fenólicos (HALLIWELL, 2011).

Danos oxidativos ocorrem em células e tecidos quando as espécies reativas excedem a capacidade antioxidante endógena (HALLIWELL, 2011; HARASYM; OLEDZKI, 2014). Muitos agentes estressores podem promover a produção de espécies reativas, como o ambiente, alimentação inadequada, contaminantes químicos em alimentos, álcool, drogas e cigarro (HARASYM; OLEDZKI, 2014).

O excesso de espécies reativas está relacionado ao enfraquecimento do sistema imunológico, à promoção do processo de envelhecimento e à iniciação e progressão de muitas doenças, como doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão e câncer. (HARASYM; OLEDZKI, 2014; RAJENDRANM, 2014).

Uma boa estratégia para aumentar a ingestão de antioxidantes seria o consumo de sucos de frutas ricos em compostos fenólicos (COPPINGER et al., 2013; SINGH et al. 2015; TONIN et al. 2015). Nesse contexto, na última década, o suco ou a polpa de açaí vem ganhando importância como bebida energética no mundo (Yamaguchi et al, 2015).

O açaí da palmeira *Euterpe oleracea* é amplamente estudado apresentando vários benefícios à saúde, destacando por seu efeito antioxidante, anti-inflamatório e cardioprotetor (JENSEN et al, 2008; MERTENS-TALCOTT et al, 2008; SOUZA et al, 2010; UDANI et al, 2011; POULOSE et al, 2012; KANG et al, 2012; BARBOSA et al, 2016; PALA et al, 2018).

Nos últimos anos, os frutos da palmeira *Euterpe edulis* vêm ganhando espaço no meio científico por apresentarem características similares aos frutos dos açaizeiros (*Euterpe precatória* e *Euterpe*

oleracea), porém, com maior concentração de componentes bioativos (SCHULZ et al., 2016).

Intervenções com subprodutos dos frutos juçara (polpa, suco e extrato) demonstraram efeitos biológicos importantes como modulação do estado antioxidante *in vitro* (SCHULZ et al., 2017) e *in vivo* em modelos animais (CARDOSO et al., 2015a), além de ensaio clínico em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al., 2015b). Ainda, intervenções com frutos juçara demonstraram efeitos promissores sobre parâmetros como triglicérides (CARDOSO et al. 2015b), LDL (do inglês *low-density lipoprotein*) - colesterol (CARDOSO et al., 2015b; NOVELLO et al., 2015), melhora da resposta glicêmica (OYAMA et al. 2016) e efeito prebiótico (GUERGOLETTTO et al., 2016).

Devido à exploração extrativista desenfreada de seu palmito, a palmeira juçara atualmente é considerada em risco de extinção. Por este motivo, a utilização dos frutos da palmeira juçara na alimentação humana constitui uma alternativa de grande potencial nutricional, ambiental e econômico (BORGES et al. 2011; Da SILVA et al., 2014; SCHULZ et al., 2016).

Os benefícios a saúde dos frutos açaí e juçara em geral estão relacionados a sua composição nutricional, considerando que esses frutos apresentam quantidades substanciais de compostos fenólicos totais, especialmente antocianinas (BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015; YAMAGUSHI et al., 2015; SCHULZ et al., 2016; CARDOSO et al., 2018). Em estudo com indivíduos saudáveis do nosso grupo de pesquisa, observou-se resultados positivos relacionados ao consumo agudo de suco de juçara em biomarcadores de estresse oxidativo (CARDOSO et al., 2015b). O efeito antioxidante dos frutos na saúde não está relacionado apenas com a quantidade de antioxidantes individuais, mas possivelmente depende da ação sinérgica e da interação entre as diferentes moléculas antioxidantes contidas na matriz desses alimentos (HARASYM; OLEDZKI, 2014). Nesse contexto, considerando as possíveis diferenças quantitativas e qualitativas na composição fitoquímica entre açaí e juçara, o objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o efeito da ingestão aguda de sucos de açaí e juçara sobre defesa enzimática antioxidante, capacidade antioxidante total e estado oxidativo total de indivíduos saudáveis.

Material e Métodos

Participantes

Os indivíduos saudáveis estudados foram recrutados a partir de convite e divulgação aos alunos matriculados na Universidade Federal de Santa Catarina, de forma intencional, a fim de eleger participantes jovens e saudáveis. Parâmetros de monitoramento para o estado de saúde dos indivíduos foram realizados de acordo com estudos prévios, os quais também avaliaram populações saudáveis (CARDOSO et al., 2015a; KUNTZ et al., 2014).

Onze indivíduos, seis mulheres e cinco homens, com idade entre 25 e 30 anos (média $27 \pm 2,83$ para mulheres e $25 \pm 2,16$ para homens) e IMC entre $20,67 (\pm 1,23)$ e $24,50 (\pm 1,50)$, respectivamente, completaram o protocolo de estudo.

Os indivíduos foram selecionados de modo a atender os seguintes critérios de inclusão: não fumar, não serem usuários de bebidas alcoólicas, não utilizar suplementos vitamínicos e não serem portadores de quaisquer patologias (cardiovasculares, endócrinas, gastrointestinais, renais ou hepáticas), processos infecciosos ou inflamatórios visíveis ou conhecidos três meses antes do estudo, além de não possuírem diagnóstico nutricional de desnutrição ou $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$. Esses critérios foram avaliados por questionário de história clínica elaborado pelo grupo de pesquisa.

O estado nutricional foi avaliado pelas medidas de peso corporal, estatura e cálculo do índice de massa corporal (IMC), onde o peso, expresso em quilogramas (kg), é dividido pela estatura ao quadrado em metros (OMS, 2000).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética com pesquisas em seres humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o número 33131414.2.0000.0121 e o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi assinado por todos os participantes.

Desenho Experimental

Na presente proposta, o efeito do consumo único do suco de juçara foi comparado ao suco de açaí e controle (água) através de um ensaio clínico randomizado, do tipo *cross-over* e os desfechos avaliados foram biomarcadores de estresse oxidativo.

O estudo envolveu três etapas, com a administração do suco de juçara, suco de açaí e controle, havendo intervalo (“*washout*”) de uma semana entre cada intervenção administrada. Os participantes foram alocados de forma aleatória entre os três grupos, Grupo Açaí (GA), Grupo Juçara (GJ) e Grupo Controle (GC) e a quantidade administrada de cada bebida foi de 400 mL.

Os voluntários fizeram jejum de 8h, sendo realizadas as coletas sanguíneas antes da ingestão, chamada de tempo 0 (T0), e após 1h (T1) e 2h (T2).

Para padronizar e limitar a ingestão de antioxidantes durante o estudo, os participantes foram orientados verbalmente e por escrito a absterem-se de alimentos ricos em antioxidantes no período de 48h prévios à administração do suco. Os participantes receberam uma lista de alimentos divididos em três categorias: alimentos permitidos, alimentos permitidos com restrições e alimentos não permitidos (adaptado de KUNTZ et al., 2014).

Todos os indivíduos elegíveis receberam instruções para preencherem dois registros alimentares referentes às 48h precedentes a cada intervenção, para avaliar o seguimento das orientações fornecidas. Estes registros foram avaliados qualitativamente, em cada etapa do estudo, a fim de verificar a ingestão de alimentos antioxidantes nas 48h prévias do início de cada protocolo. Todos os participantes também foram orientados a não praticarem exercício físico intenso e não se privarem de noites de sono nestas 48h antecedentes às coletas sanguíneas.

Sucos de açaí e juçara

Os frutos juçara bem como os frutos oriundos do açazeiro (*Euterpe oleracea*) foram provenientes de Garuva no estado de Santa Catarina e Pará, respectivamente, sendo processados por empresa especializada localizada em Jaraguá do Sul, Santa Catarina. Amostras de 5 L por embalagem foram disponibilizadas e posteriormente porcionadas nas quantidades administradas no estudo.

A composição centesimal foi determinada seguindo os métodos recomendados pela Associação de Química Analítica Oficial (AOAC, 2005): o teor de umidade (925,09) foi determinado secando a amostra em estufa a 105 ° C até atingir peso constante; o teor de cinzas foi avaliado por incineração em mufla (940,26); o teor de proteína (920,87) foi calculado a partir do teor de nitrogênio total determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando um fator de conversão de 6,25 e lipídios totais (920,85) foram determinados de acordo com o método de extração de Soxhlet. A composição das amostras de juçara e açaí foram: cinzas: 0,20 e 0,33 g/100g; proteínas: 2,04 e 1,06 mg/100 g; e lipídios: 7 e 5,98 mg/100 g, respectivamente.

Em relação aos sólidos totais, a amostra de juçara utilizada apresentava o valor de 6,64 g/100 g, valor inferior à juçara fina ou popular

(8 a 11g/ 100g de sólidos totais) (Brasil, 2016), e amostras de açaí apresentaram teor de sólidos totais de 6,68 g/100 g, valor inferior à classificação de açaí fino ou popular, ambos detendo aparência líquida (Brasil, 2000).

A quantificação das antocianinas monoméricas totais (AMT) foi avaliada pelo método diferencial de pH de acordo com Giusti e Wrolstad (2001). A determinação da atividade antioxidante pela neutralização do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi baseada no método de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), enquanto a capacidade antioxidante pelo potencial redutor férrico (FRAP) foi avaliada por meio do método de Benzie e Strain (1996).

Análises em CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

Os sucos foram diluídos em água ultrapura (1:2 m/m) e centrifugado a 8000g por 10 min a 4°C, sendo o sobrenadante utilizado para realizar as análises de caracterização do suco.

As antocianinas foram identificadas e quantificadas pelo sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Shimadzu LC-20AT, Kyoto, Japão) equipado com um detector de arranjo de diodos (DAD; Shimadzu, SPD-M20A, Kyoto, Japão), utilizando coluna de fase reserve C18 (150 mm x 4,6 mm DI) com tamanho de partícula de 5 µm (Supelco, Nucleosil, Bellefonte, PA, EUA). O gradiente usado foi binário com fase móvel alternada A (metanol) e B (3% de ácido fórmico em água) com um fluxo programado de 1,0 mL/min. O volume de injeção foi de 20 µL para todas as amostras e a detecção foi realizada em 520 nm.

Os picos identificados foram confirmados usando padrões autênticos de cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-3-*O*-rutinosídeo (Extrasynthese, Genay, Lyon, França), dissolvido em metanol acidificado (0,1% HCl). A quantificação foi realizada utilizando curvas de calibração.

Condições para as análises em Cromatografia Líquida acoplada ao Espectrômetro de Massas com Ionização do tipo Elecspray (LC-ESI-MS/MS)

O conteúdo de compostos fenólicos foi determinado por LC-ESI-MS/MS em um sistema de CLAE (Agilent Technologies - Waldbronn, Alemanha) acoplado em um espectrofotômetro de massas íon linear (QTRAP® 3200 (Applied Biosystems / MDS Sciex, Concord, Canadá) equipado com uma fonte TurboIonSpray™ (electrospray-ESI). A separação foi realizada com uma coluna Synergi (4,6 µm de tamanho de partícula, 150 mm, 2,0 mm). O gradiente de eluição foi composto pela

fase móvel A (methanol 95% em água) e fase B (ácido fórmico 0,1% em água), seguindo: 0-5 min, 10% de A; 5-7 min, 90% A; 7-10 min, e 90% de A; 10-17 min, 10% de A. A taxa de fluxo foi de 250 $\mu\text{L}/\text{min}$, as análises foram realizadas no modo iônico negativo e a agulha capilar foi mantida em 4500 V. Os parâmetros MS / MS foram gás de cortina, 10 psi; temperatura, 400 $^{\circ}\text{C}$; gás 2,45 psi; e dissociação ativada por colisão (CAD), médio. Os teores de compostos fenólicos foram expressos em mg por 100 g de matéria seca. A quantificação foi baseada em curvas de calibração usando padrões fenólicos ultra-puros e as concentrações foram expressas em μmol e nmol.

Biomarcadores de estresse oxidativo in vivo

O estado antioxidante total (TAC - do inglês *total antioxidant status*) foi medido de acordo com o método automatizado de Erel (2004), o qual avalia a habilidade da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em neutralizar o cátion ABTS, originando composto cromóforo com absorção máxima em 660 nm. Os resultados foram expressos em milimoles de equivalente de Trolox/L (mmol TE/L).

O estado oxidativo total (TOS – do inglês *total oxidation status*) foi avaliado de acordo com Erel (2005), que mede a oxidação do complexo íon ferroso-íon-dianisidina em íon férrico pelos oxidantes da amostra avaliada. O íon férrico forma um complexo colorido com o alaranjado de xilenol em meio ácido. A intensidade da cor é proporcional ao número total de moléculas presentes, e pode ser lida em espectrofotômetro. O ensaio é calibrado com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os resultados são expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L (EREL, 2005).

As enzimas antioxidantes foram avaliadas em amostras de hemácias hemolisadas.

A CAT catalisa a conversão de duas moléculas H_2O_2 em oxigênio molecular e duas moléculas de água. O método é baseado na reação das enzimas com metanol na presença de H_2O_2 . Nesta reação é produzido formaldeído, o qual pode ser medido colorimetricamente com o composto Purpald em 540 nm (Johansson; Borg, 1988).

A enzima SOD é responsável pela dismutação do $\text{O}_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 e oxigênio molecular. Esta enzima foi medida por meio de kit (Sigma Aldrich) usando sal de tetrazólio e solução de trabalho, a qual produz composto colorido solúvel em água. A taxa de redução do $\text{O}_2^{\cdot-}$ está linearmente relacionada à ação da xantina oxidase e é inibida pela SOD. Portanto, 50% de inibição da atividade da SOD pode ser determinada por

composto colorimétrico com absorvância a 450 nm em leitor de microplacas (Epoch-Biotek Instruments, Winooski, Vermont, EUA) utilizando o software GEN5.

A GPx atua sobre vários substratos, como os hidroperóxidos orgânicos. A GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com glutathiona reduzida (GSH) para formar glutathiona oxidada (GSSG) e o produto de redução do hidroperóxido. Fisiologicamente a GPx atua acoplada à enzima glutathiona 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 ação da catalase (Wendel, 1981).

Os seguintes reagentes foram utilizados: 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, ocorrendo a leitura em leitor de microplacas (Epoch-Biotek Instruments, Winooski, Vermont, EUA) utilizando o software GEN5.

As enzimas antioxidantes foram avaliadas em relação aos eritrócitos de acordo com kit comercial (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil).

Análise dos dados

Os dados foram apresentados em média e erro padrão (EP). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste Shapiro-Wilk. Para avaliação intra e intergrupos foi realizada Análise de Variância para Medidas Repetidas (RM-ANOVA), o qual considera em seu modelo, tratamento, tempo e interação (tratamento x tempo). Análises intragrupos de dados absolutos foram realizadas pelo teste *Wilcoxon (signed rank test)* ou t pareado de acordo com a simetria dos dados. Mudanças relativas dos desfechos foram calculadas por meio da comparação percentual de cada tempo em relação ao seu período basal. O nível de significância considerado foi menor que 5% ($p < 0,05$) e os dados foram analisados no *software* estatístico Stata versão 11.0.

Resultados e Discussão

De acordo com nosso conhecimento esta é a primeira evidência que compara o efeito antioxidante do açaí e juçara em seres humanos. A tabela 1 apresenta a avaliação e quantificação dos compostos fenólicos

presentes nos sucos de juçara e açaí. Os compostos fenólicos podem ser classificados como flavonoides e não-flavonoides. Os não-flavonoides são representados pelos ácidos fenólicos e estilbenos, enquanto os flavonoides podem se subdividir em antocianinas, flavanols, flavonas, flavononas e isoflavonas (DEL RIO et al., 2013)

A tabela 2 apresenta os valores médios absolutos TAC, TOS e enzimas antioxidante – SOD, GPx e CAT. Medidas relativas dos desfechos avaliados são apresentadas na figura 1.

Neste estudo, Análise de Variância de Medidas Repetidas evidenciou interação significativa no tempo e entre tempo e tratamento para o desfecho TOS ($p < 0,001$) (Tabela 2). Ainda, diferenças significativas intragrupos, demonstradas na tabela 3, foram encontradas quando comparados os sucos de juçara e açaí aos seus respectivos valores basais, após 1ª (no limite da significância para juçara, $p = 0.05$ e $p < 0,001$ para açaí) e 2ª ($p < 0,01$ e $p < 0,001$ respectivamente), sugerindo que ambos os sucos foram capazes de diminuir TOS, o que não foi demonstrado pela bebida controle (figura 1) No entanto nenhuma das intervenções promoveu efeito sobre a TAC e as enzimas antioxidantes, em análises intra e intergrupos.

Dentre os compostos fenólicos identificados nos sucos de açaí e juçara, as antocianinas, pigmentos da família dos flavonoides, ganham destaque. Antocianina é um antioxidante que confere coloração roxa a frutas e vegetais. Diversos estudos já demonstraram que as antocianinas se apresentam em quantidades relevantes nos frutos juçara e açaí (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; BORGES et al., 2013; INADA et al., 2015, YAMAGUCHI et al., 2015).

Em nossas amostras, juçara e açaí apresentaram 115 e 57,33 mg/100 g de cianidina-3-O-glicosídeo e 49,26 mg e 54,45 mg/100 g de cianidina-3-O-rutinosídeo, em base seca, respectivamente. As quantidades dos subtipos de antocianinas em amostras de polpa de açaí ou juçara apresentam alta variabilidade. Enquanto Bicudo et al. (2014) encontraram 87,1 mg/100g de cianidina-3-O-rutinosídeo em amostras de juçara, Inada e colaboradores (2015) evidenciaram teor de 1255 mg/100 g, ambos em base seca. Quantidade de cianidina-3-O-rutinosídeo foi encontrada em quantidade bem inferior na polpa de açaí (17,9 mg/100 g em base seca) (Gordon et al, 2012). As quantidades de cianidina-3-O-glicosídeo também podem variar entre açaí e juçara, sendo evidenciado o valor de 109 mg/100 g em amostras de polpa de *Euterpe edulis* (Bicudo et al, 2014) e 4,9 mg/100 g em polpa de *Euterpe oleracea* (Gordon et al, 2012).

Ressalta-se que a composição nutricional e de compostos bioativos dos frutos juçara podem sofrer variações, sendo influenciados por diversos fatores: local de plantio e condições de crescimento das palmeiras como altitude, incidência de luz solar e estágio de maturação dos frutos (BORGES et al., 2011; BORGES et al., 2013; DA SILVA et al., 2014; SCHULZ et al., 2015).

Em nosso estudo foram identificados os ácidos fenólicos vanílico, gálico, cafeico, benzoico, siríngico, protocatechuico e clorogênico, o que corrobora com outros autores (DEL POZO-INSFRAN et al., 2004; GORDON et al., 2012; BORGES et al. 2013). Os ácidos fenólicos gálico, protocatechuico, clorogênio e cafeico foram superiores na amostra de suco de juçara enquanto os ácidos vanílico e siríngico foram maiores no suco de açaí. Além disso, quantidades relevantes de kaempferol e aromandrina foram encontradas no suco de juçara.

Os ácidos fenólicos apresentam atividade biológicas, especialmente propriedade antioxidantes devido à presença do grupamento hidroxil ligado nas estruturas dos anéis aromáticos (TERPINC et al., 2011). Em relação a outros compostos fenólicos encontrados nas amostras de suco de juçara, a aromadrina não é amplamente difundida na natureza, porém alguns efeitos biológicos já foram atribuídos a estes compostos, como atividade anticarcinogênica, anti-inflamatória e especialmente antioxidante (VENDITTI et al., 2013). Kaempferol é um composto reconhecido por seu potencial antioxidante e vem sendo relacionado com prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (CHEN; CHEN, 2013).

Os ácidos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes, devido à presença do grupamento hidroxil ligado nas estruturas dos anéis aromáticos. Estas moléculas podem atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio (TERPINC et al. 2011). A quantidade de compostos fenólicos presente nos frutos, como já mencionado, depende do estágio de maturação dos frutos, estação do ano e localização geográfica (BORGES et al, 2011; SCHULZ et al, 2015). Por isso, é perceptível a variação da quantificação destes compostos entre as pesquisas.

Atividade antioxidante é o efeito mais estudado tanto nos frutos juçara quanto no açaí (YAMAGUCHI et al, 2015; SCHULZ et al, 2016; CARDOSO et al, 2018), possivelmente pela quantidade relevante de compostos fenólicos presentes nestes frutos. No entanto, a grande maioria destes estudos acontecem *in vitro*. Desta forma, evidências que avaliem o efeito antioxidante dos frutos juçara e frutos de açaizeiro e seus subprodutos em seres humanos são escassos. De acordo com nosso

conhecimento este é o primeiro estudo que propõe a avaliação comparativa dos sucos de juçara e açai em seres humanos.

Os presentes resultados demonstram que os sucos de juçara e açai foram capazes de atenuar a produção de espécies reativas nos indivíduos avaliados após 1h e 2h de ingestão. Este resultado corrobora com o estudo anterior do nosso grupo de pesquisas, o qual evidenciou que a ingestão de 450 mL de suco de juçara (451,9 mg de C3-G /100 g de antocianinas monoméricas totais e 442,7 mg de EAG/100 g de fenólicos totais) diminuiu a peroxidação lipídica ao longo do tempo de 4 h em comparação com bebida controle, em indivíduos saudáveis (CARDOSO et al, 2015b). Considerando o açai, Mertens-Talcott e colaboradores (2008) demonstraram que após ingestão única de suco de açai (*Euterpe oleracea*) indivíduos saudáveis apresentaram aumento significativo da atividade antioxidante avaliada por ORAC (do inglês *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) após 1h e 2h.

Danos oxidativos causados por espécies reativas podem lesar membranas celulares lipoproteicas, além do DNA. Assim, a diminuição da produção de espécies reativas, podem consequentemente lesar com menos intensidade estruturas celulares (NOVAES et al, 2012). Possivelmente os compostos fenólicos presentes nas amostras de sucos exerceram atividade antioxidante atenuando o estado oxidante total por meio da doação de elétrons ou hidrogênio às espécies reativas.

Não foi encontrado efeito significativo das bebidas açai, juçara e controle, sobre as enzimas antioxidantes avaliadas, possivelmente pelo fato das intervenções serem administradas de forma única. No entanto, ressalta-se que, considerando as mudanças relativas, o suco de juçara promoveu aumento médio sutil da atividade de SOD (2,9%) e aumentos médios mais expressivos em CAT (67,4%) e GPx (27%) e o suco de açai diminuição da SOD (-0,5%) e alterações positivas menos expressivas de CAT (11,3%) e GPx (15,7%) na 1ª hora de ingestão. Na 2ª hora após o consumo de suco juçara e açai houve comportamento similar no aumento médio de GPx (36,8% e 48,3%, respectivamente) e CAT (90,2% e 97,4%, respectivamente), (Figura 1). De acordo com a revisão de Del Bo e colaboradores (2015), acerca do efeito dos *berries* sobre biomarcadores de estresse oxidativo, ensaios clínicos que utilizaram intervenções com frutos ricos em antocianinas, demonstraram que a modulação de enzimas antioxidantes endógenas parece permanecer incerta, uma vez que trabalhos demonstram aumento na atividade destas enzimas após intervenção, enquanto outros não expressam resultados significativos.

Antocianinas podem estimular o sistema antioxidante endógeno pela ativação de genes que codificam enzimas, reparando e estimulando a atividade das enzimas SOD e GPx (TOUFEKTSIAN et al, 2008).

Os compostos fenólicos são comumente relacionados à modulação de biomarcadores de estresse oxidativo. Neste estudo, a diminuição de TOS após ingestão de suco de açaí e juçara, possivelmente são pautadas pela absorção dos polifenóis presentes nos sucos administrados, os quais provavelmente neutralizaram espécies reativas em excesso.

Os resultados deste estudo apresentam a primeira evidência dos efeitos dos sucos de açaí e juçara em indivíduos saudáveis. Constatou-se que a ingestão única do suco de açaí e juçara foram capazes de diminuir o estado oxidativo total de indivíduos saudáveis ao longo de duas horas de ingestão, apresentando interação entre tempo e tratamento. Estes resultados indicam efeitos similares dos sucos sobre a diminuição dos danos oxidativos em estruturas celulares em indivíduos saudáveis.

Os frutos de açaí e juçara possuem importantes e promissoras propriedades para a saúde. Desta forma ensaios clínicos agudos e de ingestão prolongada são incentivados em indivíduos saudáveis ou portadores de patologias crônicas, a fim de elucidar os reais efeitos da exposição desses compostos bioativos no organismo humano.

Tabela 1 – Composição dos compostos fenólicos nas porções consumidas dos sucos de açaí e juçara.

Ácidos fenólicos	Juçara mg/400 mL	Açaí mg/400 mL
Ácido gálico	0,06	0,01
Ácido 3,4-Dihidroxibenzoico (ácido protocatechuico)	1,13	0,35
Ácido p-cumárico	0,10	0,02
Ácido vanílico	0,46	0,72
Ácido ferúlico	0,22	0,20
Ácido clorogênico	0,04	0,01
Ácido cafeico	0,40	-
Ácido siríngico	0,08	0,31
Flavanonol		
Taxifolina	0,36	0,05
Aromadendrina	1,21	0,21
Flavonol		
Rutina	0,01	-
Quercetina	0,04	0,02
Isoquercetina	0,03	0,02
Kaempferol	1,31	0,10
Estilbenoide		
Resveratrol	0,06	-

Aldeído fenólico		
Vanilina	0,02	-
Flavan-3-ols		
Catequina	0,35	0,07
Epicatequina	0,13	0,01
Flavona		
Apigenina	0,32	-
Antocianina		
Antocianinas monoméricas totais (mg/C3G) ^a	1494,4	251,06
Cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo (mg)	462,04	229,36
Cianidina-3- <i>O</i> -rutinosídeo (mg)	197,04	213,81
Atividade antioxidante		
DPPH (mg EAA)	1663,28	1923,34
FRAP (µmol ferrous sulphate)	10500,60	10519,6

^a Valores expressos em mg de cianidina-3-*O*-glicosídeo

Tabela 2: Biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis após ingestão aguda do suco de juçara, açaí e controle.

Parâmetros	Tempo	Controle	Juçara	Açaí	p ^a	p ^b	p ^c
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP			
TAC (mmol/L)	0	1,67 ± 0,20	1,36 ± 0,25	1,38 ± 0,19	0,33	0,01	0,35
	1	1,57 ± 0,21	1,21 ± 0,24	1,25 ± 0,21			
	2	1,66 ± 0,22	1,15 ± 0,025	1,12 ± 0,18			
TOS (µmol/L)	0	8,31 ± 0,62	9,89 ± 0,20	9,78 ± 0,18	0,09	0,006	< 0,000
	1	8,60 ± 0,52	9,41 ± 0,38	8,12 ± 0,51			
	2	8,82 ± 0,31	9,34 ± 0,26	8,18 ± 0,30			
SOD (U/mg de Hb)	0	93,32 ± 15,31	97,76 ± 9,91	103,24 ± 11,60	0,78	0,49	0,20
	1	97,72 ± 17,08	96,05 ± 7,92	102,50 ± 11,81			
	2	97,92 ± 16,15	80,03 ± 10,85	104,11 ± 12,23			
GPx (U/mg de Hb)	0	8,75 ± 1,29	7,74 ± 1,10	8,22 ± 1,24	0,07	0,01	0,75
	1	8,12 ± 1,12	8,98 ± 1,20	8,62 ± 1,01			
	2	9,43 ± 1,07	10,02 ± 1,58	11,36 ± 1,88			
CAT (U/mg de Hb)	0	19,17 ± 9,08	12,60 ± 2,92	20,03 ± 4,95	0,28	0,66	0,20
	1	13,05 ± 5,19	17,97 ± 5,15	15,45 ± 2,11			
	2	12,35 ± 4,58	14,89 ± 3,84	31,60 ± 7,24			

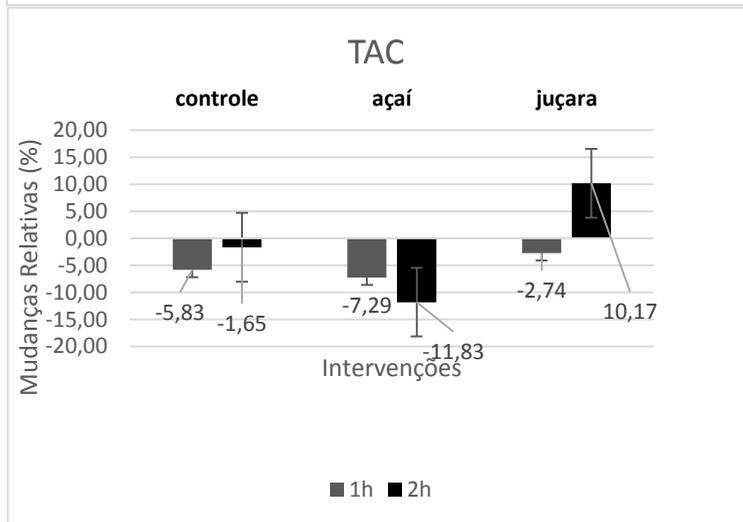
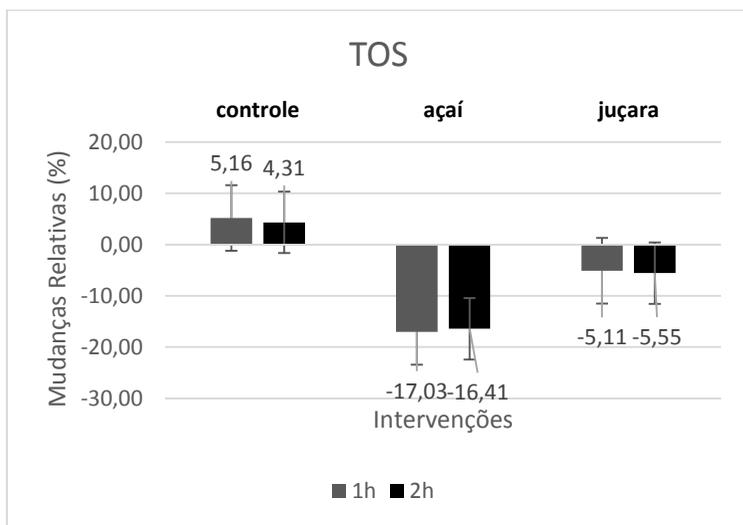
Dados expressos em média e erro padrão (n=11). TOS, do inglês *total oxidant status*; TAC do inglês *total antioxidante capacity*, SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; CAT, catalase; ANOVA-MR: ^a tratamento; ^b tempo; ^c interação: tempo x tratamento.

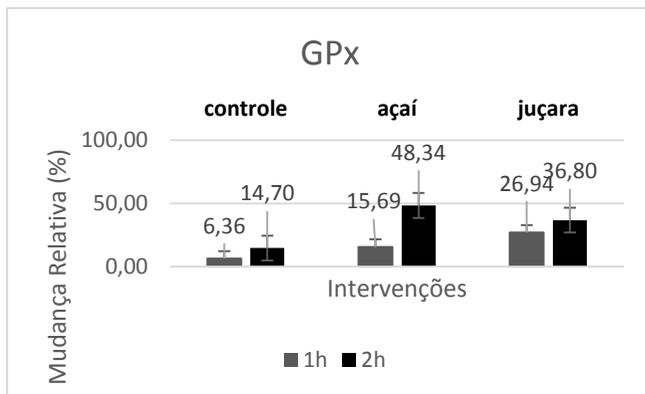
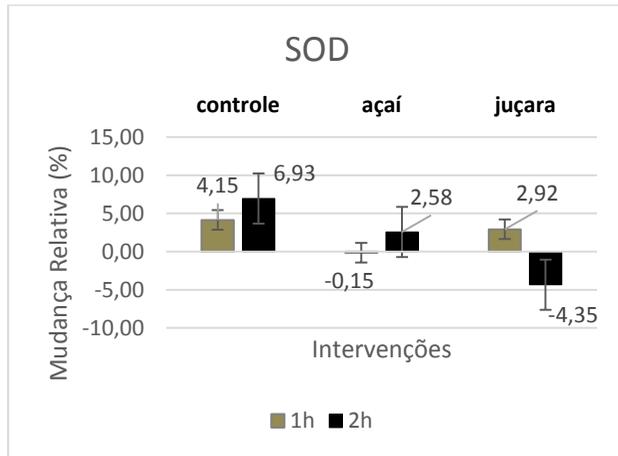
Tabela 3: Avaliação intragrupos de biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis após 1 e 2 horas (em relação ao tempo basal) da ingestão do suco de juçara, açaí e controle

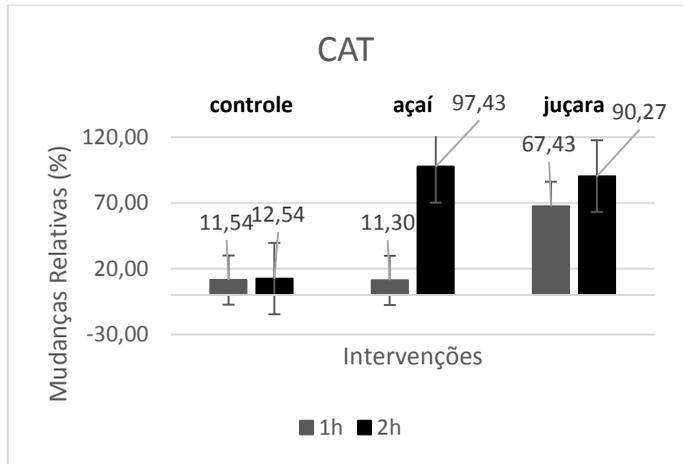
Parâmetro	Tempo	Controle p	Juçara P	Açaí p
TAC (mmol/L)	1	0,32	0,16	0,16
	2	0,65	0,32	0,33
TOS (µmol/L)	1	0,22	0,05	< 0,00
	2	0,14	0,01	< 0,00
SOD (U/mg de Hb)	1	0,21	0,71	0,72
	2	0,72	0,73	0,21
GPx (U/mg de Hb)	1	0,78	0,65	0,37
	2	0,47	0,15	0,21
CAT (U/mg de Hb)	1	0,37	0,78	0,53
	2	0,24	0,10	0,42

Valor de p a partir de avaliação de dados absolutos em comparação aos respectivos valores basais por *Wilcoxon signed rank* ($n=11$). TOS, do inglês *total oxidant status*; TAC do inglês *total antioxidante capacity*, SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; CAT, catalase;

Figura 1 – Mudanças relativas nos parâmetros TAC, TOS, SOD, GPx and CAT, (n = 11), em indivíduos saudáveis após 1 e 2 horas da ingestão do suco de juçara, açai e controle. TAC do inglês *total antioxidante capacity*; TOS, do inglês *total oxidant status*; SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; CAT, catalase.*Diferenças significativas intragrupos; †Diferenças significativas intergrupos.







Referências

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official methods of analysis* (18th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 2005.

BARBOSA, P. O., PALA, D., SILVA, C. T., de SOUZA, M. O., do AMARAL, J. F., VIEIRA, R. A. L., FOLLY, G. A. de F., VOLP, A. C. P., de FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v.32, 674-690, 2016.

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, 70–76, 1996.

BICUDO, M. O. P., RIBANI, R. H., & BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. **Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)**, v. 69, 142–147, 2014.

BORGES, G. S. C., GONZAGA, L. V., JARDINI, F. A., MANCINI FILHO, J., 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, 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, 708–715, 2011.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n °01, de 07 janeiro 2000. Regulamento técnico

para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa açaí, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeto de Instrução Normativa e Anexo que visam estabelecer em todo território nacional a complementação dos padrões de identidade e qualidade de polpa de fruta 2016.

CARDOSO, A. L., DE LIZ, S., RIEGER, D. K., FARAH, A. C. A., VIEIRA, F. G. K., DE ASSIS, M. A. A., & DI PIETRO, P. F. An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Planta Medica**, v.84, 487-499, 2018.

CARDOSO, A. L., DI PIETRO, P. F., VIEIRA, F. G. K., BOAVENTURA, B. C. B., DE LIZ, S., BORGES, G. S. C., FETT, R., ANDRADE, D. F., DA SILVA, E. L., & DI PIETRO, P. F. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, 152–162, 2015b.

CARDOSO, L. M., NOVAES, R. D., CASTRO C. A., NOVELLO, A. A., GONCALVES, R. V., RICCI-SILVA. M. E., RAMOS, H. J. O., PELUZIO, M. C. G., & LEITE, J. P. V. Chemical composition, characterization of anthocyanins and antioxidant potential of *Euterpe edulis* fruits: applicability on genetic dyslipidemia and hepatic steatosis in mice. **Nutricion Hospitalaria**, v. 32, 702–709, 2015a.

COPPINGER, T., JEANES, Y., MITCHELL, M., et al. Beverage consumption and BMI of British schoolchildren aged 9–13 years. **Public Health Nutrition**, 16, 1244–1249, 2013.

DEL BO C, MARTINI D, PORRINI M, KLIMIS-ZACAS D, & RISO P. Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. **Food &Function**, 6, 2890–2917, 2015.

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

DEL RIO, D., RODRIGUEZ-MATEOS, A., SPENCER, J. P. E., TOGNOLINI, M., BORGES, G., & CROZIER, A. Dietary (poly) phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, 18, 1818–1892, 2013.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation. more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, 37, 277-285, 2004.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, 38, 1103-1111, 2005.

FELZENSZWALB, I., DA COSTA MARQUES, M. R., MAZZEI, J. L., & AIUB, C. A. F. (2013). Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: a potential superfruit to be considered. **Chemical Toxicology**, 58, 536–544, 2013.

GIUSTI, M. M, & WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad. R.E. (Ed.). **Current Protocols Food Analytical Chemistry**, 2, 1-13, 2001

GORDON, A., CRUZ, A. P., CABRAL, L. M., DE FREITAS, S. C., TAXI, C. M., DONANGELO, C. M., DE ANDRADE, M. R., FRIEDRICH, M., DA MATTA, V. M., & MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, 133, 256–263, 2012.

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

HARASYM, J., & OLEDZKI, R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. **Nutrition**, 30, 511–517, 2014.

INADA, K. O. P., OLIVEIRA, A. A., REVORÊDO, T. B., MARTINS, A. B. N., LACERDA, E. C. Q., FREIRE, A. S., BRAZ, B. F., SANTELLI, R. E., TORRES, A. G., PERRONE, D., & MONTEIRO, M. C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants

in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, 17, 422–433, 2015.

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, placebocontrolled, crossover study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 8326–8333, 2008.

JOHANSSON, L. H., & BORG, L. A. H. A spectofotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical Biochemistry**, 174, 331-336, 1988.

KANG, J., THAKALI, K. M., XIE, C., KONDO, M., TONG, Y., OU, B., JENSEN, G., MEDINA, M. B., SCHAUSS, A. G., & WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, 133, 671–677, 2012.

KUNTZ, S., KUNZ, C., HERRMANN, J., BORSCH, C. H., ABEL, G., FROHLING, B., DIETRICH, H., & RUDLOFF, S. Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA ANTHOCyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. **British Journal of Nutrition**, 112, 925–93, 2014.

LORENZI, H. Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras). Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2010.

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

NOVAES, R. D., GONÇALVES, R. V., MARQUES, D. C., CUPERTINO, M. C., PELUZIO, M. C., LEITE, J. P., & MALDONADO, I.R. Effect of bark extract of *Bathysa cuspidata* on

hepatic oxidative damage and blood glucose kinetics in rats exposed to paraquat. **Toxicologic Pathology**, 40, 62–70, 2012.

NOVELLO, A. A., CONCEIÇÃO, L. L., DIAS, M. M. S, CARDOSO, L. M., de CASTRO, C. A, RICCI-SILVA, M. E, LEITE, J. P. V., & PELUZIO, M. C. G. Chemical characterization, antioxidant and antiatherogenic activity of anthocyanin-rich extract from *Euterpe edulis* Mart. in mice. **Journal of Food and Nutrition Research**, 54, 101–112, 2015.

PALA, D., BARBORA, P. O., SILVA, C. T., DE SOUZA, M. O., FREITAS, F. R., VOLP, A. C. P., MARANHÃO, R. C., DE FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clinical Nutrition**, 37, 618-623, 2018.

POULOSE, S. M., FISHER, D. R., LARSON, J., BIELINSKI, D. F., RIMANDO, A. M., CAREY, A. N. Anthocyanin-rich acai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, 1084–1093, 2012.

RAJENDRAN, P., NANDAKUMAR, N., RENGARAJAN, T., PALANISWAMI, R., GNANADHAS, E. N., LAKSHMINARASIAH, U., GOPAS, J., & NISHIGAKI, I. Antioxidants and human diseases **Clinica Chimica Acta**, 436, 332–347, 2014.

SCHULZ, M., BORGES G. S. C., GONZAGA, L. V., SERAGLIO, S. K. T., OLIVO, I. S., AZEVEDO, M. S., NEHRING, P., GOIS, J. S , ALMEIDA, T. S., VITALI, L., SPUDEIT, D. A., MICKE, G. A., BORGES, D. L. G., & FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research Internacional**, 77, 125–131, 2015.

SCHULZ, M., BORGES, G. S. C., GONZAGA, L. V., COSTA, A. C. O., & FETT, R. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, 89, 14–26, 2016.

SOUZA, M. O., SILVA, M., SILVA, M. E., OLIVEIRA, R. P., & PEDROSA, M. L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, 26, 804–810, 2010.

TERPINC, P., POLAK, T., SEGATIN, N., HANZLOWSKY, A., ULRIH, N. P., & ABRAMOVIC, H. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. **Food Chemistry**, 128, 62–68, 2011.

TONIN, F. S., STEIMBACH, L. M., WIENS, A., PERLIN, C. M., & PONTAROLO, R. Impact of Natural Juice Consumption on Plasma Antioxidant Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Molecules**, 20, 22146–22156, 2015.

TOUFEKTSIAN, M. C., LORGERIL, M., NAGY, N., SALEN, P., DONATI, M. B., GIORDANO, L., MOCK, H. P., PETEREK, S., MATROS, A., PETRONI, K., PILU, R., ROTILIO, D., TONELLI, C., DE LEIRIS, J., BOUCHER, F., & MARTIN, C. (2008). Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. **Journal of Nutrition**, 138, 747–752, 2008.

UDANI, J. K., SINGH, B. B., SINGH, V. J., BARRETT, M. L. Effects of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. **Nutrition Journal**, 10, 45-52, 2011.

WENDEL, A. Glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, 77, 325–333, 1981.

YAMAGUCHI, K. K. L., PEREIRA, L. F. R., LAMARÃO, C. V., LIMA, E. S., & DA VEIGA-JUNIOR, V F. Amazon açai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, v. 179, 137–151, 2015.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos alimentos são fontes naturais de compostos bioativos, os quais podem exercer impacto sobre a saúde humana na prevenção de doenças, especialmente crônicas não transmissíveis. É importante incentivar pesquisas que procurem elucidar efeitos biológicos associados à alimentos e bebidas, em especial constituídos de frutas e vegetais.

Sugere-se, com a revisão publicada por nosso grupo de pesquisa, que a suplementação com alimentos oriundos dos frutos juçara (polpa, suco ou extrato) possuem efeitos positivos sobre a peroxidação lipídica, modulação do estado inflamatório, melhora da glicemia e possível efeito benéfico sobre microorganismos probióticos. No entanto, efeito dos frutos juçara sobre enzimas antioxidantes, em ensaios clínicos ou modelos experimentais de ingestão crônica em animais, permanece inconclusivo. Ainda, a relação entre os frutos juçara e seus derivados e parâmetros de perfil lipídico ainda são controversos em modelos experimentais com animais, os quais alguns resultados parecem positivos, enquanto outros não. Grande parte dos estudos revisados avaliaram os efeitos biológicos dos frutos juçara em modelos animais e embora os resultados pareçam promissores é necessário padronizar algumas estratégias, como tempo de consumo, concentração de compostos bioativos (por ex. estágio de emadurecimento) e forma do alimento administrado (suco, polpa ou extrato liofilizado).

No meio científico, os frutos juçara têm sido vastamente estudados por sua composição de compostos bioativos, particularmente pelo teor de polifenóis e antocianinas.

Os compostos fenólicos adquiridos pela alimentação são extensivamente metabolizados pela microbiota intestinal em metabólitos que também podem contribuir para os efeitos biológicos. Ao investigar a absorção e excreção dos compostos fenólicos a partir da ingestão do suco de juçara foi evidenciado produtos metabólicos típicos (ácido protocatechuico, ácido hipúrico e hydroxyphenylacetic acid) de metabolização de antocianinas na urina. No entanto outros ácidos fenólicos derivados possivelmente do suco foram encontrados como kaempferol glucuronidado e ácido ferúlico.

Ainda, quando comparados os efeitos entre bebida de açaí, juçara e controle, foi evidenciado interação significativa entre tempo e tratamento para o desfecho Estado Oxidante Total, enquanto comparações intragrupos demonstraram que os sucos de juçara e açaí atenuaram biomarcador de dano oxidativos no mesmo marcador, Estado Oxidante Total, nas 1ª e 2ª horas de ingestão única. A atenuação de TOS

possivelmente pode estar relacionada com a ação dos compostos fenólicos presentes nas amostras de juçara e açai, os quais atuam na neutralização de espécies reativas. Considerando os potenciais benefícios nutricionais dos frutos juçara e açai e seus efeitos antioxidantes, ensaios clínicos são incentivados para melhor compreensão dos possíveis efeitos destes frutos e seus compostos bioativos sobre a saúde humana.

Sendo assim, apesar dos potenciais impactos positivos à saúde relacionados aos frutos ricos em antocianinas, seus efeitos sobre enzimas antioxidantes, especialmente em ensaios clínicos agudos, permanecem inconclusivos.

Considerando as limitações da presente tese, podemos relacionar a falta de avaliação dos metabólitos gerados após ingestão do açai, onde haveria a possibilidade de comparação com o suco juçara. No entanto ressaltamos que a avaliação do perfil de compostos fenólicos excretados a partir da ingestão única do suco de juçara é a primeira evidência, de acordo com nosso conhecimento, acerca da metabolização de antocianinas e ácidos fenólicos a partir da ingestão de frutos juçara. Ressalta-se que o fruto juçara é o foco da presente tese e que para o entendimento dos seus potenciais benefícios à saúde é importante compreender a metabolização de seus compostos bioativos.

O número de participantes foi ligeiramente pequeno nos ensaios clínicos realizados na presente tese, etapas 2 e 3, no entanto diversos estudos que avaliaram a absorção e excreção de compostos fenólicos, bem como ingestão aguda de frutos e biomarcadores de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis, também utilizaram amostras de participantes similares.

Dentre os desafios e aprendizados com esta tese se destacam o entendimento e aplicação de metodologias em equipamentos com alta tecnologia, utilizados em outras áreas do conhecimento como química, farmácia, ciência dos alimentos, entre outras. Para a realização da etapa 2 da tese foi firmada parceria com a Universidade de São Paulo, junto ao Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos, o qual possui vasta experiência com análises bioquímicas referentes à biodisponibilidade de antocianinas. Esta experiência propiciou troca de experiências e conhecimentos entre os pesquisadores e foi de grande importância para a conclusão da fase 2 da tese.

As parcerias estabelecidas pela presente tese foram essenciais para o cumprimento dos seus objetivos. Os laboratórios de Química de Alimentos do Centro de Ciências dos Alimentos (UFSC) e de Eletroforese Capilar no Departamento de Química (UFSC) proporcionaram enriquecer a caracterização das amostras alimentares utilizadas. Ainda, considerando

a experiência do Laboratório de Pesquisa em Lipídeos, Antioxidantes e Aterosclerose em análises de biomarcadores de estresse oxidativo pode-se ponderar que esta parceria viabilizou as análises referidas das etapas 2 e 3 da tese referentes às enzimas antioxidantes, estado oxidante total e capacidade antioxidante total.

Ensaio clínico são incentivados como pesquisas futuras a fim de aprimorar o conhecimento sobre metabolização de antocianinas após ingestão de alimentos como frutas, além de investigação que elucidem o efeito dos frutos juçara e açai a de ingestão crônica ou prolongada, em ensaios clínicos controlados.

Por fim, o aprofundamento de pesquisas que envolvam frutos juçara podem auxiliar o fortalecimento da identidade destes frutos, nos âmbitos nutricional e comercial, impulsionando como opção para alimentação um fruto regional e ainda fomentando a preservação das palmeiras *Euterpe edulis* na Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; GIAMPIERI, F.; TULIPANI, S.; CASOLI, T.; DI STEFANO, G.; GONZÁLEZ-PARAMÁS, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; BUSCO, F.; QUILES, J. L.; CORDERO, M. D.; BOMPADRE, S.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, p. 289-294, 2014.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2005). *Official methods of analysis* (18th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

ARGENTATO, P. P.; MORAIS, C. A.; SANTAMARINA, A. B.; CESAR, H. C.; ESTADELLA, D.; ROSSO, V. V.; PISANI, L. P. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates UCP-1 and inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the brown adipose tissue of offspring. **Clinical Nutrition Experimental**, v. 12, p. 50-65, 2017.

ARGUELLES, S.; GOMEZ, A.; MACHADO, A.; AYALA, A. A preliminary analysis of within-subject variation in human serum oxidative stress parameters as a function of time. **Rejuvenation Research**, v. 10, n. 4, p. 621–636, 2007.

ARTS, I. C. W.; SESINK, A. L.; FAASSEN-PETERS, M.; HOLLMAN, P. C. H. The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. **British Journal of Nutrition**, v. 91, p. 841–847, 2004.

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.

ÁVILA, M.; HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PELAEZ, C.; REQUENA, T.; DE PASCUAL-TERESA, S. Bioconversion of

anthocyanin glycosides by Bifidobacteria and Lactobacillus. **Food Research International**, v. 42, p. 1453–1461, 2009.

AZZINI, E.; VITAGLIONE, P.; INTORRE, F.; NAPOLITANO, A.; DURAZZOL, A.; FODDAIL, M. S.; FUMAGALLI, A.; CATASTA, G.; ROSSIL, L.; VENNERIA, E.; RAGUZZINI, A.; PALOMBA, L.; FOGLIANO, V. MAIANI, G. Bioavailability of strawberry antioxidants in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 104, p. 1165–1173, 2010.

BARBOSA, P. O.; PALA, D.; SILVA, C. T.; de SOUZA, M. O.; do AMARAL, J. F.; VIEIRA, R. A. L.; FOLLY, G. A. de F.; VOLP, A. C. P.; de FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 674–680, 2016.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. MINIM, O.; V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição Campinas**, v. 23, p. 629-643, 2010.

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.

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**, 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.

BHOOSHAN, K. P.; PANDEY, K. B.; RIZV, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, p. 270–278, 2009.

BICUDO, M. O. P.; RIBANI, R. H.; BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on-tree ripening process. **Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands)**, v. 69, p. 142–147, 2014.

BLOOMER, R. J.; FISHER-WELLMAN, K. H. Systemic oxidative stress is increased to a greater degree in young, obese women following consumption of a high fat meal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, p. 19-25, 2009.

BORGES, G. S. C.; VIEIRA, F. G. K.; COPETTI, C.; GONZAGA, L. V.; ZAMBIAZI, R. C.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128-2133, 2011.

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.

BOUAYED, J.; BOHN, T. Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 3 (4), 228-237, 2010.

BOURSCHEID, K.; SIMINSKI, A.; FANTINI, A. C.; MAC FADDEN, J. *Euterpe edulis* – Palmito juçara. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região Sul. **Brasília: Ministério do Meio Ambiente**, p. 179-183, 2011.

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 n°01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí**, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório da produção de polpa de açaí no Estado do Pará. Relatório 2015. **Belém: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeto de Instrução Normativa e Anexo que visam estabelecer em todo território nacional a complementação dos padrões de identidade e qualidade de polpa de fruta, 2016.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, Lawrence, v. 56, p. 317-333, 1998.

BRITTON, G.; KHACHIK, F. Carotenoids nutrition and health. In: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H, editors. **Carotenoids in food**. **Boston: Birkhauser Basel**, v. 5, p. 45-66, 2009.

BROUILLARD, R.; In Ed. HARBORNE, J. B. The flavonoids. *Advances in Research since 1980*. Chapman and Hall, London, New York, 525, 1988.

CARDONA, F.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; TULIPANI, S.; TINAHONES, F. J.; QUEIPO-ORTUÑO, M. I. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 8, p. 1415–1422, 2013.

CARDOSO, A. L.; DI PIETRO, P. F.; VIEIRA, F. G. K.; BOAVENTURA, B. C. B.; DE LIZ, S.; BORGES, G. S. C.; FETT, R.; ANDRADE, D. F.; DA SILVA, E. L. Acute consumption of açai juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p.152–162, 2015b.

CARDOSO, L. M.; NOVAES, R. D.; CASTRO, C. A.; NOVELLO, A. A.; GONCALVES, R. V.; RICCI-SILVA, M. E.; RAMOS, H. J. O.; PELUZIO, M. C. G.; LEITE, J. P. V.; Chemical composition, characterization of anthocyanins and antioxidant potential of *Euterpe edulis* fruits: applicability on genetic dyslipidemia and hepatic steatosis in mice. **Nutricion Hospitalaria**, v. 32, p. 702-709, 2015a.

CARDOSO, A. L.; De LIZ, S.; RIEGER, D. K.; FARAH, A. C. A.; VIEIRA, F. G. K.; De ASSIS, M. A. A.; Di PIETRO, P. F. An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Planta Medica**, v. 84, p. 487-499, 2018.

CARR, A.; MCCALL, M. R.; FREI, B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species-reaction pathways and antioxidant protection. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 20, p. 1716–1723, 2000.

CASTRO, C. A.; NATALI, A. J.; CARDOSO, L. M.; FERREIRA-MACHADO, A. B.; NOVELLO, A. A.; DA SILVA, K. A.; TAFURI, N. F.; DA MATA, S. L. P.; PEDROSA, M. L.; PELUZIO, MDO, C. G. Aerobic exercise and not a diet supplemented with jussara açai (*Euterpe edulis* Martius) alters hepatic oxidative and inflammatory biomarkers in ApoE-deficient mice. **The British Journal of Nutrition**, v. 112, p. 285–294, 2014.

CHAIMSOHN, F. P.; CHIQUETTO, N. C. Construção do marco legal para a produção de açai de juçara: contribuições da “oficina interestadual sobre legislação, comercialização e marketing para exploração de frutos da palmeira juçara”. **Revista Conexão UEPG**, v. 9, n.2, p.245-253, 2013.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura mensal: juçara (fruto). **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2013.

COPPINGER, T.; JEANES, Y.; MITCHELL, M., et al. Beverage consumption and BMI of British schoolchildren aged 9–13 years. **Public Health Nutrition**, v. 16, p. 1244–1249, 2013.

COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–blackberries. **Journal of functional foods**, v. 5, p. 539 – 549, 2013.

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.

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO- SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 1658–1670, 2011.

CROWE, F. L.; RODDAM, A. W.; KEY, T. J.; APPLEBY, P. N.; OVERVAD, K.; JAKOBSEN, M.U.; TJØNNELAND, A.; HANSEN, L.; BOEING, H.; WEIKERT, C.; LINSEISEN, J.; KAAKS, R.; TRICHOPOULOU, A.; MISIRLI, G.; LAGIOU, P.; SACERDOTE, C.; PALA, V.; PALLI, D.; TUMINO, R.; PANICO, S.; BUENO-DE-MESQUITA, H. B.; BOER, J.; VAN GILS, C. H.; BEULENS, J. W.; BARROCARTE, A.; RODRÍGUEZ, L.; LARRAÑAGA, N.; SÁNCHEZ, M. J.; TORMO, M. J.; BUCKLAND, G.; LUND, E.; HEDBLAD, B.; MALANDER, O.; JASSON, J. H.; WENNBERG, P.; WAREHAM, N. J.; SLIMANI, N.; ROMIEU, I.; JENAB, M.; DANESH, J.; GALLO, V.; NORAT, T.; RIBOLI, E. Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. **European Heart Journal**, v. 32, p. 1235-1243, 2011.

CROZIER, A.; YOKOTA, T.; JAGANATH, I. B.; MARKS, S. C.; SALTMARSH, M.; CLIFFORD, M. N. Secondary metabolites in fruits, vegetables, beverages and other plant-based dietary components. In: CROZIER, A.; ASHIHARA, H.; CLIFFORD, M. N.; Eds. **Plant Secondary Metabolites and the Human Diet**. Oxford: Blackwell Publishing, PP. 208–302, 2006.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 8, p. 1001–1043, 2009.

CZANK, C.; CASSIDY, A.; ZHANG, Q.; et al. Human metabolism and elimination of the anthocyanin , cyanidin-3-glucoside : a 13 C-tracer study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 97, p. 995–1003, 2013.

Da SILVA, P. P. M.; do CARMO L. F.; SILVA, G. M.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; CASEMIRO, R. C.; SPOTO, M. H. F. Physical, chemical, and lipid composition of juçara (*Euterpe edulis* Mart.) pulp. **Brazilian Journal of Food Nutrition**, v. 24, p. 7-13, 2013.

Da SILVA, N. A.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z.; De ROSSO, V. V. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v. 62, p. 5072-5084. 2014.

DE BARRIOS FREITAS, R.; MELATO, F. A.; OLIVEIRA, J. M. DE; et al. Euterpe edulis effects on cardiac and renal tissues of Wistar rats fed with cafeteria diet. **Nutrición Hospitalaria**, v. 34, n. 1, p. 186, 2017.

DE BRITO, E. S.; DE ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C. C., CLEVIDENCE, B., NOVOTNY, J. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara e guarabiju. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9389–9394. 2007.

DE FERRARS, R. M.; CZANK, C.; ZHANG, Q.; et al. The pharmacokinetics of anthocyanins and their metabolites in humans. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 13, p. 3268–3282, 2014.

DEL BO. C.; MARTINI, D.; PORRINI, M.; KLIMIS-ZACAS, D.; RISO, P. Berries and oxidative stress markers: an overview of human intervention studies. **Food & Function**, v. 6, p. 2890–2917, 2015.

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

DEL RIO, D.; RODRIGUEZ-MATEOS, A.; SPENCER, J. P.E.; TOGNOLINI, M.; BORGES, G.; CROZIER, A. Dietary (poly) phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases.. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 18, p. 1819-1824, 2013

DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Huma 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.

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

EREL, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 2, p. 112–119, 2004.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103–1111, 2005.

FANG, J. Some anthocyanins could be efficiently absorbed across the gastrointestinal mucosa: Extensive presystemic metabolism reduces apparent bioavailability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 18, p. 3904–3911, 2014.

FAO/WHO. **Report of the joint FAO / WHO expert consultation on the risks and benefits of fish consumption**. 2010.

FELICIANO, R. P.; BOERES, A.; MASSACCESSI, L.; et al. Identification and quantification of novel cranberry-derived plasma and urinary (poly)phenols. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 599, p. 31–41, 2016.

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.

FERNANDES, I.; FARIA, A.; CALHAU, C.; DE FREITAS, V.; MATEUS, N. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of functional foods**, v. 7, p. 54 –66, 2014.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira: RAMB**. v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

FLORA, S. J. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. **Molecular and Cellular Biology**, v. 53, p. 1–2, 2007.

FORESTER, S. C.; WATERHOUSE, A. L. Gut metabolites of anthocyanins, gallic acid, 3-O-methylgallic acid, and 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde, inhibit cell proliferation of Caco-2 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 5320–5327, 2010.

FORMAN, H. J.; DAVIES, K. J. A.; URSINI, F. How do nutritional antioxidants really work: Nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 66, p. 24–35, 2014.

FREITAS, R. B.; RÔMULO, D. N.; BIANCA, G. M.; ELIZIÁRIA, C. S.; MURILO, S. A.; LUCIANO, G. F.; LUCIANA, M. L.; MARIA DO CARMO, P.; REGGIANI, V. V. G.; JOÃO PAULO, L. *Euterpe edulis* extracts positively modulates the redox status and expression of inflammatory mediators. **Food Agricultura and Immunology**, v. 0105, p. 1–13, 2017a.

FREITAS, R. B.; MELATO, F. A.; OLIVEIRA, J. M.; BASTOS, D. S.; CARDOSO, R. M.; LEITE, J. P. V.; LIMA, L. M. *Euterpe edulis* effects on cardiac and renal tissues of *Wistar* rats fed with cafeteria diet. **Nutricion Hospitalaria**, v. 34, p.186-192, 2017b.

FREITAS, R. B.; NOVAES, R. D.; GONÇALVES, R. V.; MENDONÇA, B. G.; SANTOS, E. C.; RIBEIRO, A. Q.; LIMA, L. M.; FIETTO, L. G.; PELUZIO, M. C. G.; LEITE, J. P. V. *Euterpe edulis*: extract but not oil enhances antioxidant defenses and protects against nonalcoholic fatty liver disease induced by a high-fat diet in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p.1-9, 2016.

FRIEDWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON D. S. Estimation of concentrations of low density cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GALVANO, F.; SALAMONE, F.; NICOLOSI, A.; VITAGLIONE, P. Anthocyanins-based drugs for colon cancer treatment: the nutritionist's point of view. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**. v. 64, p.431-432, 2009.

GERALDI, M. V.; TULINI, F. L.; SOUZA, V. M.; De MARTINIS, E. C. P. Development of yoghurt with juçara pulp (*Euterpe edulis* M.) and the probiotic *Lactobacillus acidophilus* La5. **Probiotics & Antimicrob Proteins** 2017. doi: 10.1007/s12602-017-9280-z.

GIORDANO, L.; COLETTA, W.; TAMBURRELLI, C.; D'IMPERIO, M.; CRESCENTE, M.; SILVESTRI, C.; RAPISARDA, P.; RECUPERO, G. R.; DE CURTIS, A.; IACOVIELLO, L.; GAETANO, G.; ROTILIO, D.; CERLETTI, C.; DONATI, M. B. Four-week ingestion of blood orange juice results in measurable anthocyanin urinary levels but does not affect cellular markers related to cardiovascular risk: a randomized cross-over study in healthy volunteers. **European Journal of Nutrition**, v. 51, p. 541-548.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-Visible Spectroscopy. In: Wrolstad, R. E. Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons., Unit, v. 2, p. 1-13, 2001.

GONÇALVES, R. V.; NOVAES, R. D.; LEITE, J. P.; VILELA, E. F.; CUPERTINO, M. C.; NUNES, L. G.; MATTA, S. L. Hepatoprotective effect of *Bathysa cuspidata* in a murine model of severe toxic liver injury. **Internnatioanl Journal of Experimental Pathology**, v. 93, p. 370-376, 2012.

GONZÁLEZ-BARRIO, R.; BORGES, G.; MULLEN, W.; CROZIER, A. Bioavailability of anthocyanins and ellagitannins following consumption of raspberries by healthy humans and subjects with an ileostomy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 3933–3939, 2010.

GORDON, A.; CRUZ, A. P.; CABRAL, L. M.; De FREITAS, S. C.; TAXI, C. M.; DONANGELO, C. M.; de ANDRADE, M. R.; FRIEDRICH, M.; da MATTA, V. M.; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açáí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, p. 256–263, 2012.

GRAMMER, T. B.; KLEBER, M. E.; MARZ, W.; SILBERNAGEL, G.; SIEKMEIER, R.; WIELAND, H.; PILZ, S.; TOMASCHITZ, A.; KOENIG, W.; SCHARNAGL, H.; Low-density lipoprotein particle

diameter and mortality: the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study. **European Heart Journal**, v. 36, p. 31-38, 2015.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, p. 110-118, 2004.

GROSS, G. G. (1985). Biosynthesis and metabolism of phenolic acids and monolignols. In **Takayoshi Higuchi (Ed.)**, Biosynthesis and biodegradation of wood components, p. 229–271, 1985.

GUERGOLETTI, K. B.; COSTABILE, A.; FLORES, G.; GARCIA, S.; GIBSON, G. R. In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v. 196, p. 251–258, 2016.

GUERRA, J. F. D. C.; MACIEL, P. S.; DE ABREU, I. C. M. E.; PEREIRA, R. R.; SILVA, M.; CARDOSO, L. D. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; DE LIMA, W. G.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 192–202, 2015.

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

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

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

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.

- HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and cell culture. How should you do it and what does it mean? **British Journal of Pharmacology**, v. 141, p. 231–55, 2004.
- HAMADA, K.; KAKIGAWA, N.; SEKINE, S.; SHITARA, Y.; HORIE, T. Disruption of ZO-1/claudin-4 interaction in relation to inflammatory responses in methotrexate-induced intestinal mucositis. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 72, p. 757-765, 2013.
- HAMADA, K.; SHITARA, Y.; SEKINE, S.; HORIE, T. Zonula occludens-1 alterations and enhanced intestinal permeability in methotrexate-treated rats. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 66, p. 1031-1038, 2010.
- HARASYM, J.; OLEZKI, R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. **Nutrition**, v. 30, p. 511–517, 2014.
- HARRIS, W. S.; BULCHANDANI, D. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides? **Current Opinion in Lipidology**, v. 17, p.387-393, 2006.
- 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.
- HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.1, p.163-187, 2010.
- HEINRICH, J.; VALENTOVÁ, K.; VACEK, J.; PALÍKOVÁ, I.; ZATLOUKALOVÁ, M.; KOSINA, P.; ULRICHOVÁ, J.; VRBKOVÁ, J.; SIMÁNEK, V. Metabolic Profiling of Phenolic Acids and Oxidative Stress Markers after Consumption of *Lonicera caerulea* L. Fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 61, 4526–4532, 2013.
- HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açai (*Euterpe oleracea*) – A phytochemical and pharmacological assessment of the species health claims. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 10–21, 2011.

HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R.P.; FERREIRA, I. C.F.R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, 501–513, 2015.

HENNING, S. M.; SEERAM, N. P.; ZHANG, Y.; LI, L.; GAO, K.; LEE, R.; WANG, D. C.; ZERLIN, A.; KARP, H.; THAMES, G.; KOTLERMAN, J.; LI, Z.; HEBER, D. Strawberry Consumption Is Associated with Increased Antioxidant Capacity in Serum. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 116-122, 2010.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Seminars in Hematology**, v. 26, p. 277-285, 1989.

HOFFMAN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22 (4), 263-268, 2009,

HOLLMAN, P. C. H. Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, p. 74–83, 2004.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de Compostos Ativos de Alimentos. In: COZZOLINO, S. M. F. (Org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 4. Ed. Barueri: Manole, 2012. Cap. 37, p. 878-914.

INADA, K. O. P.; OLIVEIRA, A. A.; REFORÊDO, T. B.; MARTINS, A. B. N.; LACERDA, E. C. Q.; FREIRE, A. S.; BRAZ, B. F.; SANTELLI, R. E.; TORRES, A. G.; PERRONE, D.; MONTEIRO, M. C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 2015.

INSTITUTO DE MEDICINA (Institute of Medicine - IOM) (EUA). Panel on Micronutrients. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington (DC): **National Academy Press**, 2001; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/>

JAGANATH, I. B.; CROZIER, A. Flavonoid metabolism. **Plant Metabolism and Biotechnology**, Chichester, United Kingdom: Wiley, p. 285–312, 2011.

JAIN, P.; PAREEK, A.; RATAN, Y.; SHARMA, S.; PALIWAL, S. Free Radicals and Dietary Antioxidants: A Potential Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v.13, n. 7, p. 34-48, 2013.

JAKOBSDOTTIR, G.; BLANCO, N.; XU, J.; AHRNÉ, S.; MOLIN, G.; STERNER, O.; NYMAN M. Formation of short-chain fatty acids, excretion of anthocyanins, and microbial diversity in rats fed blackcurrants, blackberries, and raspberries. **Journal of Nutrition and Metabolism**, 1-12, 2013.

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, M.; KLEIN, M.; ZANGER, U. M.; MOHAMMAD, M. K.; CAVE, M. C.; GAIKWAD, N. W.; DIAS, N. J.; SELCER, K. W.; GUO, Y.; HE, J.; ZHANG, X.; SHEN, Q.; QIN, W.; LI, J.; LI, S.; XIE, W. Inflammatory regulation of steroid sulfatase: A novel mechanism to control estrogen homeostasis and inflammation in chronic liver disease. **Journal of Hepatology**, v. 64, 44-52, 2016.

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.

JOHANSSON, L. H.; BORG, L. A. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. **Analytical biochemistry**, v. 174, n. 1, p. 331–6, 1988.

JOSEPH, J. A.; NADEAU, D. A.; UNDERWOOD, A. The color code: a revolutionary eating plan for optimum health. **New York: The Philip Lief Group Ed**, 2002.

JOSEPH, S. V.; EDIRISINGHE, I.; BURTON-FREEMAN, B. M. Berries: Anti-inflammatory effects in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 3886-3903, 2014.

KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIEA, C.; KONDOB, M.; TONG, Y.; OUB, B.; JENSEN, G.; MEDINAD, M. B.; SCHAUSSE, A. G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, p. 671-677, 2012.

KARDUM, N.; KONIC-RISTIC, A.; SAVIKIN, K.; SPASIC, S.; STEFANOVIC, A.; IVANISEVIC, J.; MILJKOVIC, M. Effects of Polyphenol-Rich Chokeberry Juice on Antioxidant/Pro-Oxidant Status in Healthy Subjects. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, p. 869-874, 2014.

KAY, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, p. 137-146, 2006.

KAY, C. D.; KROON, P. A.; CASSIDY, A. The bioactivity of dietary anthocyanins is likely to be mediated by their degradation products. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 53, n. SUPPL. 1, p. 92-101, 2009.

KEPPLER, K. HUMPF, H. U. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 5195-5205, 2005.

KOSTOGRYS, R. B.; FRANCZYK-ŻARÓW, M.; MAŚLAK, E.; GAJDA, M.; MATEUSZUK, L.; JACKSON, C. L.; CHŁOPICKI, S. Low carbohydrate, high protein diet promotes atherosclerosis in apolipoprotein E/low-density lipoprotein receptor double knockout mice (apoE/LDLR^{-/-}). **Atherosclerosis**, v. 223, p. 327-331, 2012.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinc, oxidative stress and physical activity. **Revista de Nutrição**. v. 16, p. 433-441, 2003.

- KRUGER, M. J.; DAVIES, N.; MYBURGH, K. H.; LECOUR, S. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research International**, v. 59, p. 41–52, 2014.
- KUNTZ, S.; KUNZ, C.; HERRMANN, J.; BORSCH, C. H.; ABEL, G.; FROHLING, B.; DIETRICH, H.; RUDLOFF, S. Anthocyanins from fruit juices improve the antioxidant status of healthy young female volunteers without affecting anti-inflammatory parameters: results from the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over ANTHONIA (ANTHOCyanins in Nutrition Investigation Alliance) study. **British Journal of Nutrition**, v. 112, p. 925–93, 2014.
- LEI, X. G.; ZHU, J. H.; CHENG, W. H.; BAO, Y.; HO, Y. S.; REDDI, A. R.; HOLMGREN, A.; ARNÉR, E. S. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: basic mechanisms and health implications. **Physiological Reviews**, v. 96, p. 307-364, 2016.
- LILA, M. A.; BURTON-FREEMAN, B.; GRACE, M.; KALT, W. Unraveling Anthocyanin Bioavailability for Human Health. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 375–393, 2016.
- LIU, Z.; REN, Z.; ZHANG, J.; CHUANG, C. C.; KANDASWAMY, E.; ZHOU, T.; ZUO, L. Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases, **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 1-14, 2018.
- LUDWIG, I. A.; MENA, P.; CALANI, L.; et al. New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 89, p. 758–769, 2015.
- LORENZI, H. et.al. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*). São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2006.
- LORENZI, H. (2010). Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras). Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- 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.

LOWE F. Biomarkers of oxidative stress. In: Laher I, editor. *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer, Berlin, Heidelberg, v.2, p. 65-87, 2014.

LUSHCHAK, V. I. Oxidative stress in yeast. *Biochemistry (Moscow)*, v. 75, p. 281–296, 2010.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, v.224, p.164–175, 2014.

LYNN, A.; MATHEW, S.; MOORE, C. T.; RUSSE, J.; ROBINSON, E.; SOUMPASI, V.; BARKER, M. E. Effect of a Tart Cherry Juice Supplement on Arterial Stiffness and Inflammation in Healthy Adults: A Randomised Controlled Trial. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 69, p. 122–127, 2014.

MANACH, C.; MAZUR, A.; SCALBERT, A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*, v. 16, p. 77-84, 2005.

MATHISON, B. D.; KIMBLE, L. L.; KASPAR, K. L.; KHOO, C.; CHEW, B. P. Consumption of cranberry beverage improved endogenous antioxidant status and protected against bacteria adhesion in healthy humans: a randomized controlled trial. *Nutrition Research*, v. 34, p. 420-427, 2014.

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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 1546-1551, 2001.

MATSUMOTO, A.; HOPKINS, J. M. D. Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *The New England Journal of Medicine*, v. 350, p.1093–1103, 2004.

MAZZA, G. Anthocyanins and heart health. *Ann Ist Super Sanita [An Italian Journal]*, v. 43, p. 369–374, 2007.

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

MCGHIE, T. K.; WALTON, M. C. The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, p. 702-13, 2007.

MCKAY, D. L.; CHEN, C. Y. O.; ZAMPARIELLO, C. A.; BLUMBERG, J. B. Flavonoids and phenolic acids from cranberry juice are bioavailable and bioactive in healthy older adults. **Food Chemistry**, v. 168, p. 233-240, 2015.

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.

MILBURY, P. E.; VITA, J. A.; BLUMBERG, J. B. Anthocyanins are bioavailable in humans following an acute dose of cranberry juice. **The Journal of nutrition**, v. 140, p. 1099-1104, 2010.

MORAIS, C. A.; OYAMA, L. M.; CONRADO, R. M.; ROSSO, V. V.; NASCIMENTO, C. O.; PISANI, LP. Polyphenols-rich fruit in maternal diet modulates inflammatory markers and the gut microbiota and improves colonic expression of ZO-1 in offspring. **Food Research International**, v. 77, p. 186-193, 2015.

MORAIS, C. A.; OYAMA, L. M.; OLIVEIRA, J. L.; GARCIA, M. C.; ROSSO, V. V.; AMIGO, L. S. M.; NASCIMENTO, C. M.; PISANI, L. P. Jussara (*Euterpe edulis* Mart.) supplementation during pregnancy and lactation modulates the gene and protein expression of inflammation biomarkers induced by trans-fatty acids in the colon of offspring. **Mediators of Inflammation**, p.1-14, 2014. doi: 10.1155/2014/987927.

MOTOHASHI, N.; SAKAGAMI, H. Anthocyanins as Functional Food Colors. In: Linguistics. H. de Hoop, P. de Swart (eds), **Bioactive Heterocycles VII**, pp 1. 200.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v. 30, p. 134–144, 2014.

NORBERTO, S.; SILVA, S.; MEIRELES, M.; et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1518–1528, 2013.

NOVAES, R. D.; GONÇALVES, R. V.; MARQUES, D. C.; CUPERTINO, M. C.; PELUZIO, M. C.; LEITE, J. P.; MALDONADO, I.R. Effect of bark extract of *Bathysa cuspidata* on hepatic oxidative damage and blood glucose kinetics in rats exposed to paraquat. **Toxicologic Pathology**, v. 40, 62–70, 2012.

NOVELLO, A. A.; CONCEIÇÃO, L. L.; DIAS, M. M. S.; CARDOSO, L. M.; de CASTRO, C. A.; RICCI-SILVA, M. E.; LEITE, J. P. V.; PELUZIO, M. C. G. Chemical characterization, antioxidant and antiatherogenic activity of anthocyanin-rich extract from *Euterpe edulis* Mart. in mice. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 54, p. 101–112, 2015.

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

OYAMA, L. M.; SILVA, F. P.; CARNIER, J.; De MIRANDA, D. A.; SANTAMARINA, A. B.; RIBEIRO, E. B.; Do NASCIMENTO, C. M. O.; De ROSSO, V. V.; Juçara pulp supplementation improves glucose tolerance in mice. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 8, n. 1, p. 8, 2016.

OZEKI, Y.; MATSUBA, Y.; ABE, Y.; UMEMOTO, N.; SASAKI, N. Pigment biosynthesis I. Anthocyanins. **Plant Metabolism and Biotechnology**, p. 155–181, 2011.

PAGLIARUSSI, M. S., A. cadeia produtiva agroindustrial do açaí: estudo da cadeia e proposta de um modelo matemático. 65f. TCC, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2010.

PALA, D.; BARBORA, P. O.; SILVA, C. T.; De SOUZA, M. O.; FREITAS, F. R.; VOLP, A. C. P.; MARANHÃO, R. C.; De FREITAS, R. N. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids,

apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clinical Nutrition**, v. 37, 618-623, 2018.

PERON, D. V.; FRAGA, S.; ANTELO, F. Thermal degradation kinetics of anthocyanins extracted from juçara (*Euterpe edulis* Martius) and “Italia” grapes (*Vitis vinifera* L.), and the effect of heating on the antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 232, p. 836–840, 2017.

PINCHUK, I.; LICHTENBERG, D. Analysis of the Kinetics of Lipid Peroxidation in Terms of Characteristic Time-Points. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 178, p. 63-76, 2014.

POJER, E.; MATTIVI, F.; JOHNSON, D.; STOCKLEY, C. S. The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 483- 508, 2013.

POLJSAK B.; JAMIK, P. “Methodology for oxidative state detection in biological systems,” in Handbook of Free Radicals: Formation, Types and Effects, D. Kozyrev and V. Slutsky, Eds., **Cell Biology Research Progress Series, Nova Science**, New York, 2010.

POLJSAK, B.; SUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-11, 2013.

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

POULOSE, S. M.; FISHER, D. R.; LARSON, J.; BIELINSKI, D. F.; RIMANDO, A. M.; CAREY, A. N.; SCHAUSS, A. G.; SHUKITT-HALE, B. Anthocyanin-rich acai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 1084–1093, 2012.

PRIOR, R. L.; WU, X. Anthoc yanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. **Free Radical Research**, v. 40, p. 1014–1028, 2006.

RAJENDRAN, P.; NANDAKUMAR, N.; RENGARAJAN, T.; PALANISWAMI, R.; GNANADHAS, E. N.; LAKSHMINARASIAH, U.; GOPAS, J.; NISHIGAKI, I. Antioxidants and human diseases **Clinica Chimica Acta**, v. 436, p. 332–347, 2014.

REIS, J. F.; MONTEIRO, V. V. S.; GOMES, R. S.; do CARMO, M. M.; da COSTA, G. V.; RIBERA, P. C.; MONTEIRO, M. C. Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, p. 315, 2016.

RODRIGUEZ-MATEOS, A.; HEISS, C.; BORGES, G.; CROZIER, A. Berry (Poly)phenols and Cardiovascular Health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 3842–3851, 2014.

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

ROVER, L. J.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 112–119, 2001.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SANTOS, R. X.; CORREIA, S. C.; ZHU, X.; SMITH, M. A.; MOREIRA, R. J.; CASTELLANI, A.; NUNOMURA, G. Perry, Mitochondrial DNA oxidative damage and repair in aging and Alzheimer's disease, **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, p. 2444–2457, 2013.

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 oleraceae* Mart. (Açaí).

Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, p. 8598-8603, 2006.

SCHIRMANN, G. S. **Composição em ácidos graxos do açaí (*Euterpe edulis*) de diversas regiões de Santa Catarina**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC. SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, 2004.

SCHRECKINGER, M. E.; LOTTON, J.; LILA, M. A.; MEJIA, E. G. Berries from South America: A comprehensive review on chemistry, health potential, and commercialization. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 233-246, 2010.

SCHULZ, M.; BORGES, G. S. C.; GONZAGA, L. V.; SERAGLIO, S. K. T.; OLIVO, I. S.; AZEVEDO, M. S.; NEHRING, P.; GOIS, J. S.; ALMEIDA, T. S.; VITALI, L.; SPUDEIT, DA.; MICKE, G. A.; BORGES, D. L. G.; FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 77: 125-131, 2015.

SCHULZ, M.; DA SILVA CAMPELO BORGES, G.; GONZAGA, L. V.; OLIVEIRA COSTA, A. C.; FETT, R. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14-26, 2016.

SCHULZ, M.; BILUCA, F. C.; GONZAGA, L. V.; BORGES, G. D.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; de GOIS, J. S.; de ALMEIDA, T. S.; BORGES, D. L.; MILLER, P. R.; COSTA, A. C.; FETT, R. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 228, p. 228: 447-454, 2017.

SHIH, P. H.; YEH, C. T.; YEN, G. C. Effects of anthocyanidin on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1557–1566, 2005.

SIEMS, W. G.; GRUNE, T.; ESTERBAUER, H. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine. **Life Sciences**, v. 57, p. 785–789, 1995.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **RedoxBiology**, v. 4, p. 180–183, 2015.

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

SLAVIN, J.; LLOYD, B. Health Benefits of Fruits and Vegetables. **Advances in Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 506–516, 2012.

STALMACH, A.; MULLEN, W.; BARRON, D.; et al. Metabolite profiling of hydroxycinnamate derivatives in plasma and urine after the ingestion of coffee by humans: Identification of biomarkers of coffee consumption. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 37, n. 8, p. 1749–1758, 2009.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, R. P.; PEDROSA, M. L. Diet supplementation with açai (Euterpe oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v. 26, p. 804–810, 2010.

SPENCER, J. P. E.; CROZIER, A. Flavonoids and related compounds: bioavailability and function of flavonoids: oxidative stress and disease. **1st edition. Boca Raton: Florida** CRC Press; v. 30, p. 45-78, 2012.

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.

STRACK, D.; WRAY, V. 1993. The anthocyanins. In *The Flavonoids: Advances in Research since J.B. Harborne (Ed.)*, pp. 1-22. Chapman & Hall, London, 1986.

SWERDLOW, R. H. Treating neurodegeneration by modifying mitochondria: potential solutions to a “complex” problem. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, p. 1591–1603, 2007.

TAKIKAWA, M.; INOUE, S.; HORIO, F. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. **Journal of Nutrition**, v. 140, p. 527–533, 2010.

TANGNEY, C. C.; RASMUSSEN, H. E. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. **Curr Atheroscler**, v. 15, p. 324, 2013.

TERPINC, P.; POLAK, T.; SEGATIN, N.; HANZLOWSKY, A.; ULRIH, N. P.; ABRAMOVIC, H. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. **Food Chemistry**, v. 128, p. 62–68, 2011.

TOALDO, I. M.; CRUZ, F. A.; ALVES, T. L.; DE GOIS, J. S.; BORGES, D. L. G.; CUNHA, H. P.; DA SILVA, E. L.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the Southern Region of Brazil: Phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects. **Food Chemistry**, v. 173, p. 527–535, 2015.

TONIN, F. S.; STEIMBACH, L. M.; WIENS, A.; PERLIN, C. M.; PONTAROLO, R. Impact of Natural Juice Consumption on Plasma Antioxidant Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Molecules**, v. 20, p. 22146–22156, 2015.

TOUFEKTSIAN, M. C.; LORGERIL, M.; NAGY, N.; SALEN, P.; DONATI, M. B.; GIORDANO, L.; MOCK, H. P.; PETEREK, S.; MATROS, A.; PETRONI, K.; PILU, R.; ROTILIO, D.; TONELLI, C.; de LEIRIS, J.; BOUCHER, F.; MARTIN, C. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. **Journal of Nutrition**, v. 138, p. 747–752, 2008.

TSUDA, T. Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 56, p. 159–170, 2012.

UDANI, J. K.; SINGH, B. B.; SINGH, V. J.; BARRETT, M. L. Effects of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. **Nutrition Journal**, v. 10, p. 45, 2011.

URMI, T. A. N.; URSU, J. A. M.; EINONEN, M. A. H.; et al. Metabolism of Berry Anthocyanins to Phenolic Acids in Humans. , p. 2274–2281, 2009.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MANZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1–40, 2006.

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.

VICTOR, V. M.; ROCHA, M. Targeting antioxidants to mitochondria: a potential new therapeutic strategy for cardiovascular diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, p. 845–863, 2007.

VIEIRA, G. S.; CAVALCANTI, R. N.; MEIRELES, M. A. A.; HUBINGER, M. D. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 196–204, 2013.

VIEIRA, G. S.; MARQUES, A. S. F.; MACHADO, M. T. C.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Determination of anthocyanins and non-anthocyanin polyphenols by ultra performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (UPLC/ESI-MS) in jussara (*Euterpe edulis*) extracts. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 2135-2144, 2017.

VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, p. 813–839, 2007.

VITAGLIONE, P.; DONNARUMMA, G.; NAPOLITANO, A.; GALVANO, F.; GAÇÇP. A.; SCALFI, L.; FOGLIANO, V. Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2043–2048, 2007.

WALLACE, T C. Anthocyanins in cardiovascular disease. **Advances in Nutrition**, v. 2, p. 1-7, 2011..

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

XIE, C.; KANG, J.; BURRIS, R.; FERGUSON, M. E.; SCHAUSS, A. G.; NAGARAJAN, S.; WU, X. Açai juice attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Atherosclerosis**, v. 216, p. 327–333, 2011.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; DA VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon açai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137–151, 2015.

YAN, L. J. Protein redox modification as a cellular defense mechanism against tissue ischemic injury, **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2014.

YANG, M.; KOO, S. I.; SONG, W. O.; CHUN, O. K. Food Matrix Affecting Anthocyanin Bioavailability: Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 291-300, 2011.

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, H.; LIU, R.; TSAO, R. Anthocyanin-rich phenolic extracts of purple root vegetables inhibit pro-inflammatory cytokines induced by H₂O₂ and enhance antioxidant enzyme activities in Caco-2 cells. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 363-375, 2016.

APÊNDICES**APÊNDICE 1 – QUESTIONÁRIO DE INCLUSÃO*****Questionário Clínico*****Questionário Inclusão “EFEITO DA INGESTÃO AGUDA DO SUCO DE JUÇARA (*Euterpe edulis*) SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO, ABSORÇÃO DE ANTOCIANINAS E ÁCIDOS FENÓLICOS EM 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

Peso:

Altura:

IMC:

Diagnóstico nutricional:

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE 2

ORIENTAÇÕES FORNECIDAS AOS PARTICIPANTES**ORIENTAÇÕES GERAIS**

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

Seguir as orientações dietéticas descritas no quadro 1 (ver abaixo) durante as 48 horas precedentes ao início do estudo.

Quadro 1: Orientações dietéticas a serem seguidas previamente ao início do estudo (refere-se as 48 horas precedentes ao início de cada ensaio).

Gêneros alimentícios permitidos	Gêneros alimentícios permitidos com restrições	Gêneros alimentícios não permitidos
Carnes, peixes, frutos do mar em geral		Frutas: mirtilos, amoras, morangos, framboesas, groselhas, cerejas, uvas vermelhas, romã, ameixas, melancia e açaí.
Produtos lácteos (leite, iogurte), queijos e ovos.	Produtos lácteos com frutas (sem frutas vermelhas)	
Vegetais: batatas, mandioca, folhas verdes, pepino, abobrinha, lentilha, ervilhas, aipo, couve e cogumelos.	Vegetais: amarelo e verde, espinafre, couve-flor, brócolis e cebola (sem cebolas vermelhas). Frutas: bananas, peras, uvas brancas, pêssegos, damascos, kiwis e abacaxi.	Vegetais: batata roxa, cenoura, tomate, repolho roxo, beterraba, rabanete, leguminosas (feijão preto e vermelho), berinjela, abóbora, cebola roxa.

Pães, massas, arroz (não integrais)	Cereais matinais	
Especiarias: o sal, pimenta, vinagre branco, alho, mostarda e maionese.		
Doces: biscoitos, bolos, (sem chocolate escuro / frutas vermelhas), açúcar, mel.	Doces: geléia (sem frutas vermelhas)	Doces: doces, geleias, bolos, iogurtes e sobremesas com frutas vermelhas, chocolate, cacau em pó.
Bebidas: água com gás, água aromatizada, limonada.	De preferência descasque as frutas consumidas. Utilize temperos e especiarias com moderação.	Outros: molho de tomate.
	Evite: chá preto, chá de frutas, chá verde, café, chá e bebidas alcoólicas (cerveja, vinho e licor).	
	Permitido (por dia): uma xícara de chá, uma xícara de café, um copo de cerveja ou uma taça de vinho branco (sem vinho tinto)	

Adaptado de Kuntz et al, 2014.

- Realizar jejum total nas 8 horas antes do início do estudo;
- No dia do consumo do fruto juçara, açaí ou água, dirija-se ao Hospital Universitário a partir 7:30 horas da manhã (tente ser pontual) para a primeira coleta sanguínea;

APÊNDICE 3: Instruções para o preenchimento do registro alimentar.

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

REGISTRO ALIMENTAR

Horário e tipo de refeição	Alimento	Quantidade ingerida
---------------------------------------	-----------------	--------------------------------



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Resolução nº 466, DE 12 de dezembro de 2012, segundo o Conselho Nacional de Saúde

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo título é “Efeito da ingestão aguda do suco de juçara (*euterpe edulis*) sobre biomarcadores de estresse oxidativo e absorção de antocianinas e biodisponibilidade de ácidos fenólicos em indivíduos saudáveis”.

O açaí vem sendo reconhecido por ser um alimento rico em antioxidantes, sendo estes compostos importantes para a prevenção de diversas doenças crônicas não transmissíveis. Um fruto parecido ao fruto do açaí, chamado juçara, produz polpa semelhante, com quantidade superior de antioxidante em seus frutos e quantidade relevante de ácidos graxos monoinsaturados, benéficos ao organismo humano.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da ingestão única e após sete dias, do suco de juçara, sobre biomarcadores de estresse oxidativo, absorção de antocianinas e biodisponibilidade ácidos fenólicos, em indivíduos saudáveis.

As etapas e os procedimentos da pesquisa serão as seguintes:

- 1) Verificação do peso e altura corporal; aplicação de dois registros alimentares nas 48h precedentes às coletas sanguíneas nos ensaio agudo; no ensaio de ingestão de sete dias ocorrerá aplicação de três registros alimentares, sendo um registro condizente a um dia de semana, um dia de final de semana e dia anterior à coleta.
- 2) Restrição do consumo de frutas, vegetais, chás, bebidas alcoólicas, café e chocolate 24 horas antes do consumo do açaí ou juçara, em cada fase do ensaio agudo;
- 3) Jejum de 8 horas no dia anterior a cada coleta sanguínea;
- 4) Consumo de 450 mL de suco de açaí ou juçara, consumido em uma única vez no ensaio agudo;

- 5) Consumo de 100 mL de suco de juçara, duas vezes ao dia, durante sete dias;
- 6) Coleta sanguínea será realizada por profissional devidamente treinado, antes e 1, 2 e 4 horas após o consumo do açaí ou juçara (ensaio de ingestão única agudo) ou antes (jejum) e após setes dias (ensaio de ingestão aguda).

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.

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 descartáveis. Para amenizar a dor serão usadas agulhas finas e se possível escalpes, cadeiras confortáveis próprias para a coleta de sangue. Se houver vermelhidão na pele após a coleta, compressas geladas poderão ser colocadas no local para amenizar a dor. Os profissionais que realizarão a coleta serão treinados e capacitados para tais procedimentos. Os participantes terão almoço/lanche disponível após a realização das coletas sanguíneas, conforme protocolo.

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 consequente redução do risco e incidência de diversas doenças crônicas não transmissíveis.

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 consequência para você.

Caso tenha alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, favor entrar em contato com a pesquisadora, Alyne Lizane Cardoso, através do telefone (48) 3721-8014 ou email alyne.cardoso@hotmail.com.

Eu, _____, fui esclarecido sobre a pesquisa “Efeito da ingestão aguda do suco de juçara (*euterpe edulis*) sobre biomarcadores de estresse oxidativo e absorção de antocianinas e biodisponibilidade de ácidos fenólicos em indivíduos saudáveis” e aceito participar livremente da mesma.

Florianópolis, ____ de ____ de 2015.

Assinatura do participante
pesquisador

Assinatura do

APÊNDICE 5

Nota de Imprensa

Fruto juçara: fruto catarinense de importância nutricional e ambiental com propriedades relevantes à saúde humana

O gênero de palmeiras *Euterpe* origina diversas espécies diferentes, dentre as quais, deriva a popular palmeira juçara (*Euterpe edulis*), comumente encontrada na Mata Atlântica, em estados como Bahia, São Paulo, Rio Grande do Sul e em especial Santa Catarina. A palmeira juçara teve seu palmito explorado de forma desenfreada durante muitos anos, o que resulta na morte da planta, sendo caracterizada em risco de extinção atualmente por este motivo. Entretanto as palmeiras juçara fornecem, além do palmito, frutos redondos e de cor roxa, que podem ser processados com água e originar polpa ou bebida muito semelhante açaí em termos de cor, sabor e propriedades nutricionais.

A coloração roxa dos frutos juçara ocorre especialmente pela presença de um pigmento, que possui propriedades antioxidantes, chamado antocianina. 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.

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 doutoranda 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 Patrícia Faria Di Pietro, coordenadora do Grupo de Estudos em Nutrição e Estresse Oxidativo (GENEO) e revisou as propriedades biológicas atribuídas aos frutos juçara, e ainda, avaliou a metabolização pelo organismo humano dos principais compostos bioativos presentes nos frutos juçara, as antocianinas, e comparou o efeito antioxidante do suco de juçara, açaí e bebida controle em indivíduos saudáveis.

A revisão proposta elegeu 25 artigos os quais estudaram efeitos dos frutos juçara em propriedades relevantes para a saúde. A grande maioria dos estudos avaliados ocorreu em modelos animais, no entanto propriedades importantes foram reportadas aos frutos juçara como efeito antioxidante, melhora do perfil lipídico e da glicemia, além de melhora do estado inflamatório.

A fase 2 da presente pesquisa avaliou a metabolização dos compostos antioxidantes presentes no suco de juçara por 11 indivíduos saudáveis. Ácidos fenólicos, compostos antioxidantes que podem ser provenientes da metabolização das antocianinas ou também estarem presentes no suco, foram encontrados na urina dos participantes desta etapa. Se destaca que as propriedades benéficas à saúde exercidas pelos frutos juçara pode ser em decorrência destes metabólitos encontrados no organismo, por isso, mais estudos são necessários para elucidar esta lacuna.

A etapa 3 do presente projeto, a qual comparou a ingestão única dos sucos de juçara, açai e bebida controle, demonstrou que as bebidas de açai e juçara foram capazes de diminuir marcador referente à dano oxidativo, sugerindo efeito protetor quanto aos prejuízos causados pelas espécies reativas.

O fruto juçara pode ser considerado um alimento rico em compostos bioativos e pode ser uma alternativa alimentar que venha a ter sua identidade fortalecida, ganhando espaço nos aspectos nutricionais. Desta forma, considera-se relevante a promoção deste fruto pois além dos aspectos nutricionais tem-se a para a preservação da palmeira *Euterpe edulis* perante à Mata Atlântica. Assim o fruto juçara pode se tornar uma importante alternativa no âmbito nutricional, ambiental e econômico. Ainda, 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 conseqüente proteção contra doenças crônicas não transmissíveis.

ANEXOS

ANEXO 1 - Certificado de aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DO CONSUMO AGUDO E PROLONGADO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) E DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea*) SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, BIOMARCADORES DE DANOS OXIDATIVOS E PARÂMETROS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Pesquisador: Patricia Faria Di Pietro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 33131414.2.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 800.326

Data da Relatoria: 22/09/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto intitulado Efeito do consumo agudo e prolongado do fruto juçara (*euterpe edulis*) e do açaí (*euterpe oleracea*) sobre a capacidade antioxidante, biomarcadores de danos oxidativos e parâmetros metabólicos em indivíduos saudáveis, DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO - PPGN, Coordenação do projeto:

Profa. Dra. Patricia Faria Di Pietro

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 800.326

deslocamento serão ofertadas aos participantes;

Recomendações:

Considerando que todas as observações foram agraciadas considera-se a pesquisa aprovada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ANEXO 2 – Termo de Aceitação de Apoio Financeiro - CNPq



0044502793058687

**TERMO DE ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO
A PROPOSTA DE NATUREZA CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E/OU DE INOVAÇÃO**

Processo: 483929/2012-3

Título do Projeto: EFEITO DO CONSUMO AGUDO E PROLONGADO DO FRUTO JUÇARA (*Euterpe edulis*) E DO AÇAI (*Euterpe oleracea*) SOBRE A CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, BIOMARCADORES DE DANOS OXIDATIVOS E PARÂMETROS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Instituição de Vínculo: Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC-SC

CNPJ: 83899526000182

Instituição de Execução: Universidade Federal de Santa Catarina

CNPJ: 83899526000182

Chamada: Universal 14/2012 - Faixa A - até R\$ 30.000,00

Eu, Patrícia Faria Di Pietro, 507.392.559-91, declaro conhecer, concordar e atender integralmente às exigências Nº CPF (ou PASSAPORTE, se estrangeiro) da Chamada acima especificada e às Condições Gerais para Apoio Financeiro que regem a concessão dos recursos especificados abaixo:

AUXÍLIO FINANCEIRO**Custeio:** R\$ 25.325,00**Capital:** R\$ 95,00**Valor Global:** R\$ 25.420,00

