



Programa de Pós Graduação em Biotecnologia
Rede Nordeste de Biotecnologia
Universidade Federal do Piauí
- Ponto Focal -

**CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL, POTENCIAL QUIMIOPREVENTIVO E TOXICIDADE
DE *Mauritia flexuosa* (BURITI): INCENTIVO À BIOTECNOLOGIA SUSTENTÁVEL E
BIOPROSPECÇÃO DE FRUTOS REGIONAIS**

Joilane Alves Pereira Freire

Teresina - Piauí

Junho de 2017

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Joilane Alves Pereira Freire

**CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL, POTENCIAL QUIMIOPREVENTIVO E TOXICIDADE
DE *Mauritia flexuosa* (BURITI): INCENTIVO À BIOTECNOLOGIA SUSTENTÁVEL E
BIOPROSPECÇÃO DE FRUTOS REGIONAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, ponto focal da Universidade Federal do Piauí, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

Teresina - Piauí

Junho de 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

F866c Freire, Joilane Alves Pereira.
Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti) : incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais / Joilane Alves Pereira Freire. – 2017.
233 f.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.
“Orientador: Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira”.

1. Antioxidantes. 2. Fitoquímicos. 3. Nutracêuticos.
4. Biotecnologia. I. Título.

CDD 613.2

Joilane Alves Pereira Freire

**CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL, POTENCIAL QUIMIOPREVENTIVO E TOXICIDADE
DE *Mauritia flexuosa* (BURITI): INCENTIVO À BIOTECNOLOGIA SUSTENTÁVEL E
BIOPROSPECÇÃO DE FRUTOS REGIONAIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, ponto focal da Universidade Federal do Piauí, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira (Orientador)
Departamento de Biofísica e Fisiologia - UFPI

Prof. Dr. Francisco Leonardo Torres Leal
Departamento de Biofísica e Fisiologia - UFPI

Prof. Dr. Luciano da Silva Lopes
Departamento de Biofísica e Fisiologia - UFPI

Profa. Dra. Dilina do Nascimento Marreiro
Departamento de Nutrição - UFPI

Profa. Dra. Marcília Pinheiro da Costa
Departamento de Farmácia - UFPI

Ao meu esposo **Neurivan de Brito Freire** pela dedicação, apoio, amor e ajuda constante e à **Gabriela Freire**, filha querida, nossa estrelinha, presente de Deus para nós.

De amigos mais chegados que irmãos, agradeço a **Glaucia Porto** e amigos da **IBG**, por me ensinarem através de princípios da Palavra de Deus que a busca pelo título acadêmico nunca pode excluir a busca e o desejo de levar pessoas a Cristo.!

Gratidão!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus,

Por ter me amado primeiro, por ser o dono de tudo e de todas as coisas e me ensinar nesses anos de doutoramento ainda mais sobre o princípio da MORDOMIA, tudo que tenho vem Dele e devo usar segundo a sua soberana vontade e seu querer. Tudo que tenho e sou deve ser usado para honra e glória de Deus. Além disso, entendi que, PESSOAS SÃO MAIS IMPORTANTES QUE COISAS.

Ao Prof Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

Agradeço ao meu PRIMEIRO orientador do doutorado, Prof. Dr. **Rivelilson Mendes de Freitas** (*in memorian*), uma homem especial e que marcou a vida de quem conviveu com ele, ainda que profissionalmente, pois soube ensinar e conduzir a tantos, enquanto lhe foi possível. Você faz muita falta à pesquisa científica.

Ao orientador Drº Paulo Michel Pinheiro Ferreira

Pela amizade, contribuição inestimável, que foram fundamentais para a realização deste trabalho. Eu creio que é só o começo de muitos outros projetos que virão. Muito obrigada...!

À minha mãe e ao meu pai

Mãe e pai, sempre prontos a servir, dedicação inexplicável e amor incomparável! Só porque vocês ajudaram desde sempre, tudo se tornou possível! Amo vocês!

Ao Neurivan de Brito Freire

Meu esposo, meu amor, cuja paciência e prontidão em servir, certamente, são virtudes suas que tem abençoado nossa família! Tenho certeza que estas foram muito exercitadas durante esse período de doutoramento... Obrigada pelos auxílios, nas horas que mais precisei... Obrigada pelo HOMEM DE DEUS que você é. Acredito no amor Dele e é esse amor que nos impulsiona a continuar rumo aos nossos sonhos!

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar as dificuldades.

À Universidade Federal do Piauí, na pessoa do Magnífico Reitor Prof. **Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes**, pelo apoio ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, ponto focal da Universidade Federal do Piauí. À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia- RENORBIO, do ponto focal da Universidade Federal do Piauí, na pessoa da Prof^a. **Dra. Carla Eiras**, pela doação, compromisso e competência na gestão desse Programa. Ao Prof. **Dr Rivellison Mendes de Freitas (in memorian)**, somos gratos por ter assumido inicialmente a orientação desta tese, tendo sido essencial e muito importante sua colaboração neste trabalho.

Ao Prof. **Dr. Joaquim Soares da Costa Júnior** por, gentilmente, disponibilizar as amostras para os testes, e ao Professor e irmão em Cristo, **Drº Vicente Galber Freitas Viana**, pela colaboração durante todas as etapas de desenvolvimento da tese, além da prontidão em ajudar nas análises realizadas no IFPI. À professora Dra **Jailane de Sousa Aquino**, quase chará, que foi fundamental em muitas etapas e análises deste trabalho; grata pela parceria! À prof **Dra Antônia Maria das Graças Citó**, e todos os seus orientandos, pela grandiosa colaboração e gentileza em caracterizar as amostras do fruto. À Prof Dra **Larissa Araújo Rolim**, foi inestimável sua contribuição e disponibilidade em ajudar nas análises por HPLC. E de forma muito especial, agradeço o **cuidado de mãe** e o **carinho de amiga** da **Dra Stella Regina Arcanjo Medeiros**; você foi essencial em cada passo desses resultados. Seus conselhos serão guardados e executados; oro por sua vida!

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO**, do ponto focal da Universidade Federal do Piauí eu agradeço pela dedicação e incentivo. E agradeço também, aos membros da **Banca de Qualificação e de defesa da Tese** pela disposição em colaborar com o aperfeiçoamento desse estudo, através de importantes críticas e sugestões. Aos membros do **Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental - LAPNEX**, pela convivência prazerosa e pelo compartilhamento de suas experiências, além da amizade, carinho e apoio, que tornaram os momentos difíceis mais leves e superáveis; especialmente aos amigos do doutorado Guilherme Oliveira, ao George Laylson Oliveira, Éverton Ferreira, Oskar Almeida

e todos os alunos de Iniciação Científica pela colaboração na realização dos experimentos. Muito obrigada! E aos amigos do **Laboratório de Cancerologia – LabCancer**, Kátia Machado, Jurandy Silva, José Roberto, Narcia Mariana Fonseca, Carla Lorena Ramos, obrigada por fazerem parte dessa conquista.

À minha filha **Gabriela Freire**, criança alegre e de personalidade marcante, cujas brincadeiras e questionamentos, me inspiram nos momentos de maiores dificuldades. Você é a minha princesinha! Obrigada por esperar a mamãe durante esse período de doutoramento e por ORAR comigo...! Amo você!

Aos meus irmãos da igreja de Cristo (**Igreja Batista da Glória**), por propiciarem momentos de convivência familiar e crescimento contínuo. Em especial, nossa família agradece ao **Pastor Dário e Arlene Cruz**, servos do Senhor Jesus, pela receptividade e acolhida durante a nossa estada em Teresina, Piauí. Agradeço especialmente aos meus amigos! Vocês são especiais e são parte de mim. Agradeço a todos os que me acompanharam antes e durante este processo, estando presentes ou sentindo a minha ausência em determinados momentos. Obrigada!

“Mas... Deus é quem efetua em nós tanto o querer como o realizar, segundo a sua boa vontade. Fazei tudo sem murmurações nem contendas” (Filipenses 2:13-14).

PEREIRA-FREIRE, J.A. **Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais.** 2017. 233p. Tese (Pós-graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO), Orientador: Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira. Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina-Piauí.

RESUMO

Buriti é o nome popular do fruto da *Mauritia flexuosa* (Aricaceae), utilizado na medicina popular para tratamento de doenças dermatológicas, cicatrização de feridas e como antiinflamatório. Como alimento, é muito utilizado em preparações de doces e sucos produzidos a partir da polpa. Este estudo objetivou realizar a caracterização nutricional e o potencial quimiopreventivo de bioprodutos de buriti (polpa, casca e endocarpo em pó), além de avaliar toxicidade em camundongos fêmeas, tratados com extratos aquosos desses bioprodutos. Para tanto, uma prospecção científica e tecnológica foi realizada em bases de dados. Na caracterização nutricional, foi realizado estudo físico-químico de pH, acidez e Brix^o, seguido por análise quali e quantitativa de fibras solúveis e insolúveis, bem como perfil de minerais e ácidos graxos em polpa, casca e no endocarpo de buriti. Foram avaliadas características morfológicas (Microscopia eletrônica de varredura - MEV), reológicas e térmicas (Calorimetria exploratória diferencial – DSC, difração de raio-X - DRx) dessas amostras. Para avaliação do potencial quimiopreventivo, realizou-se o estudo quantitativo dos compostos bioativos existentes e triagem qualitativa por HPLC-DAD. Também foi realizado estudo da atividade antioxidante e caracterização da bioacessibilidade de fenóis totais *in vitro*. No estudo toxicológico em dose única, os camundongos (n = 3) foram tratados por via oral (v.o.) com extratos aquosos de polpa, casca e endocarpo de buriti nas doses de 300 e 2000 mg/kg, e durante 14 dias foram observados comportamento geral, taxa de letalidade, peso corporal, consumo de água e ração, assim como avaliação da atividade locomotora e coordenação motora por meio dos testes de campo aberto e da barra giratória, respectivamente. Após este período, os animais foram anestesiados com solução de xilazina-cetamina 0,10 mL/100 g de massa corpórea para prosseguir com análises hematológicas e bioquímicas, bem como dissecação dos principais órgãos (fígado, coração, rins, pulmão, baço, estômago e cérebro) para estudo macroscópico e histológico. No estudo de toxicidade subaguda os camundongos foram tratados com doses de 300 e 600 mg/kg por 28 dias consecutivos (n = 7). Para essa etapa de toxicidade subaguda, foi avaliado possível efeito genotóxico dessas amostras. Durante o tratamento em dose única e repetidas não foram evidenciados nenhum sinal de toxicidade durante o período de observação, de modo que não foi possível determinar a Dose Letal 50%. Como os animais foram tratados com doses até 2000 mg/kg e não foi registrada nenhuma morte durante o período de observação é possível sugerir que os extratos aquosos de polpa, casca e endocarpo de buriti, apresentam perigo relativamente baixo de toxicidade. Nos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e hematológicos não foram observadas alterações e nem efeitos sobre a atividade locomotora e coordenação motora dos animais após tratamento com os extratos nos diferentes protocolos. Além disto, não se observou alterações macroscópicas e histológicas nos principais órgãos analisados. Com base em nossa pesquisa, foi solicitado pedido de depósito de registro de patente junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Os resultados deste trabalho sugerem que a polpa, casca e endocarpo de buriti são potenciais alimentos com atividade antioxidante, bioacessíveis e seguros em ensaios pré-clínicos, bem como demonstraram potencial farmacológico quanto ao perfil lipídico e glicídico, que precisam ser melhores explorados para esclarecer seu mecanismo de ação e relevância clínica, de modo a ampliar as perspectivas do uso seguro e eficaz dos frutos de buriti de forma integral (polpa, casca e endocarpo), como ingredientes de importância biotecnológica.

Palavras-chave: Antioxidantes. Fitoquímicos. Nutracêuticos. Bioacessibilidade. HPLC.

PEREIRA-FREIRE, J. A. **Nutritional characterization, chemical-preventive potential, and toxicity of the *Mauritia flexuosa* (buriti): an encouragement to sustainable biotechnological and bioprospecting of regional fruits.** 2017. 233p. Thesis (Northeast Biotechnology Network Graduate Program – RENORBIO), Supervisor: Prof. Ph.D. Paulo Michel Pinheiro Ferreira. Federal University of Piauí (UFPI). Teresina-Piauí.

Abstract

Buriti is the popular name of the *Mauritia flexuosa* (*Aricaceae*) fruit, which is commonly used in the popular medicine for treatment of skin disease, wound healing, and also as an anti-inflammatory. As food, this fruit pulp is also used for the preparation of candy and juices. The objective of our study was to characterize the nutritional and chemical preventive potential of buriti based bio-products, as well as to assess the toxicity in mice submitted to treatment with aqueous extracts from the fruits bio-products. For this purpose, we performed a scientific and technological prospection in databases. In the nutritional characterization, we performed a pH, acidity, and Brix values physicochemical study followed up by the quantitative and qualitative analyses of soluble and insoluble fiber, as well as to outline minerals, oily acid in the buriti pulp, peel and endocarp. We evaluated the morphological (Scanning Electron Microscopy - MEV), rheological and thermal (Differential Scanning Calorimetry – DSC, X-ray Diffraction) characteristics from these samples. Next, in the assessment of the chemical-preventive potential, we performed the quantitative study and the qualitative trial by HPLC-DAD of the existing bioactive composites. In addition, we performed the analysis of the antioxidant activity and the characterization of the *in vitro* bioaccessibility of total phenols. Finally, in the single, dose toxicity test, the mice (n = 3) were treated through oral administrations at doses of 300 and 2000 mg/Kg of aqueous extracts of buriti pulp, peel and endocarp over three months. During this period, we observed their general behavior, case fatality rate, body weight, water and feed intake, as well as the evaluation of their locomotor disability and body coordination through open field tests and rotating bar, respectively. Afterwards, the animals were anaesthetized with a xylazine-ketamine solution of 0.10mL per 100g of body mass to allow the analyses hematologic and biochemical, besides the dissection of their main organs (liver, heart, kidneys, lung, spleen, stomach and brains) to the macroscopic and histological examinations. In the sub-acute toxicity study, the mice were treated at doses of 300 and 600 mg/Kg over 28 consecutive days (n = 7). In this phase, we evaluated the eventual genotoxic effect of these samples. During the single and repeated-dose treatment we found no sign of toxicity, what does not allow to determine the 50% Lethal Dose. Besides, as the animals were treated at doses of 2000 mg/Kg and we did not registered any death during the experiment it is possible to suggest the buriti aqueous extracts represent relatively low toxicity danger. After the treatment with the extracts under different protocols, no changes in the physiological, biochemical, and hematologic parameters was observed and no effect over the locomotor ability and the body coordination of the animals. Moreover, no macroscopic and the histological changes were observed. The results show buriti bio-products have bioaccessible phenolic compounds *in vitro* and antioxidant activity, as well as they show possible pharmacological activity related to lipid and glycidic metabolism, which need further investigation to clarify their action mechanism and clinical relevance. We request the filling of a patent application to the Intellectual Property National Institute (INPI). Therefore, this thesis foster further investigation to corroborate with the safe and efficient use of the buriti fruit in its integral form (pulp, peel and endocarp) as a product of biotechnological importance.

Keywords: Antioxidants. Phytochemicals. Nutraceuticals. *Mauritia flexuosa*. HPLC

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO	
Figura 1 - Organização do trabalho de tese.....	22
REFERENCIAL TEÓRICO	
Figura 1 - Buritizeiro e frutos de buriti (<i>Mauritia flexuosa</i> L.).....	32
Figura 2 - Compostos bioativos encontrados em produtos de origem vegetal.....	37
Figura 3 - Estrutura química da rutina.....	39
Figura 4 - Estrutura química dos flavonoides.....	41
Figura 5 - Proteção contra o dano oxidativo da membrana.....	41
CAPÍTULO I	
RESUMO GRÁFICO	
Figura 1 - Ilustração da prospecção científica em bases de dados pesquisadas.....	59
Figura 2 - Distribuição por ano (1999-2016) dos artigos selecionados.....	60
Figura 3 - Imagens da palmeira, cachos e fruto de buriti.....	62
Figura 4 - Ilustração do fruto inteiro e de corte transversal e longitudinal, com identificação do epicarpo, meso e endocarpo.....	64
Figura 5 - Estrutura química dos carotenoides em polpa de buriti.....	69
Figura 6 - Estrutura química de tocoferóis, vitamina E, ácido ascórbico e compostos fenólicos da <i>Mauritia flexuosa</i>	70
Figura 7 - Estrutura química de flavonoides isolados em polpa de buriti.....	71
Figura 8 - Perfil de ácidos graxos em polpa de <i>Mauritia flexuosa</i>	73
CAPÍTULO II	
RESUMO GRÁFICO	
Figura 1 - Visão geral da palmeira de buriti em buritizais de Valença, Piauí.....	96
Figura 2 - Fluxograma do processo de obtenção das amostras liofilizadas.....	98
Figura 3 - Liofilizador utilizado para desidratação à frio das amostras de buriti.....	99
Figura 4 - Fruto e subprodutos de buriti, antes e após a liofilização.....	100
Figura 5 - Fluxograma de análise de A_w das amostras de buriti.....	101
Figura 6 – Fluxograma de análise de pH das amostras de buriti.....	101
Figura 7 - Fluxograma da análise de ATT em amostras de buriti.....	102
Figura 8 – Fluxograma da análise de Brix ^o em amostras de buriti.....	103
Figura 9 - Curvas DSC da polpa (a), casca (b) e endocarpo (c) de buriti, massa de amostra (5 mg). Suporte de amostra de alumínio com tampa, dinâmica de nitrogênio (50 mL min ⁻¹), razão de aquecimento 10 °C min ⁻¹ para cada amostra	118
Figura 10 – Ilustração de difratogramas de polpa, casca e endocarpo de buriti, obtido pelo processo de liofilização.....	120
Figura 11 - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) do pó de polpa (a), casca (b) e endocarpo (c) do fruto de buriti desidratado por liofilização. Resoluções de 1000x.....	121
Figura 12 - Relação entre viscosidade aparente e taxa de deformação para polpa, endocarpo e casca em pó do buriti.....	124
CAPÍTULO III	

RESUMO GRÁFICO	131
Figura 1 - Processamento das amostras de buriti.....	138
Figura 2 – Curva de calibração do ácido gálico para determinação do teor de fenólicos totais (750nm).....	139
Figura 3 – Curva de calibração da Quercetina para determinação do teor de flavonoides totais, com absorvância a 420 nm.....	139
Figura 4 – Curva de calibração do β -caroteno com absorvância de 450 nm.....	140
Figura 5 – Curva de calibração da catequina, com absorvância em 500 nm.....	141
Figura 6 – Curva de calibração do ácido tânico, com absorvância de 550 nm.....	141
Figura 7 – Capacidade antioxidante contra o radical DPPH [•] da polpa, casca e endocarpo de buriti.....	144
Figura 8 – Capacidade antioxidante contra o radical ABTS ^{•+} da polpa, casca e endocarpo de buriti.....	145
Figura 9 – Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti pelo potencial redutor.....	146
Figura 10 – Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti contra peroxidação lipídica.....	147
Figura 11 – Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti contra o óxido nítrico.....	148
Figura 12 – Capacidade antioxidante em eritrócitos – estudo ex vivo.....	149
Figura 13 – Perfil cromatográfico obtido por CLAE-DAD para (A) extrato metanólico de polpa, (B) casca e (C) endocarpo (230 nm).....	151
Figura 14 – Capacidade antioxidante dos extratos aquosos de polpa (PL), casca (CL) e endocarpo (EL) em diferentes concentrações (0,5 – 8,0 mg/ML) pela inibição do radical DPPH [•] (A), ABTS (B) e potencial redutor (C), níveis de TBARS (D), contra o óxido nítrico (E) e hemólise oxidativa (F).....	158
Figura 15 – Capacidade hemolítica dos extratos aquosos de Polpa (PL), Casca (CL) e Endocarpo liofilizados (EL) de buriti, em diferentes concentrações (0,5 – 8,0 mg/ML).....	162
CAPÍTULO IV	
RESUMO GRÁFICO	177
Figura 1 - Representação esquemática do teste de <i>Artemia Salina</i>	183
Figura 2 – <i>Mus musculus</i> , linhagem <i>Swiss</i>	184
Figura 3 - Esquema do estudo da toxicidade aguda e subaguda de polpa, casca e endocarpo de buriti.....	186
Figura 4 – Atividade locomotora dos camundongos pelo teste de campo aberto, onde (A) - número de cruzamentos; (B) Comportamento de autolimpeza (<i>grooming</i>) e (C) Número de levantamentos (<i>rearing</i>).....	187
Figura 5 - Barra giratória (rota rod) usada para avaliar a coordenação motora.....	188
Figura 6 - Processamento do sangue para análise hematológica e bioquímica.....	189
Figura 7 – Parâmetros histológicos de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas após tratamento agudo, por via oral.....	208
Figura 8 – Parâmetros histológicos de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas após tratamento com doses repetidas (subagudo), de extratos de polpa, casca e endocarpo de buriti por via oral.....	209

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 - Teor máximo de umidade para diversos alimentos liofilizados.....	29
Tabela 2 - Rendimento para produtos desidratados.....	31
Tabela 3 – Principais substâncias bioativas e propriedades farmacológicas de polpa de buriti.....	35

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Composição centesimal da polpa de <i>Mauritia flexuosa</i> (g/100g).....	65
Tabela 2 - Minerais na polpa da <i>Mauritia flexuosa</i> em relação às recomendações dietéticas para homens/mulheres entre 25 e 50 anos, respectivamente.....	66
Tabela 3 – Compostos bioativos encontrados na <i>M. flexuosa</i>	67
Tabela 4 - Percentual de ácidos graxos em polpa de frutos e óleo de buriti.....	75
Tabela 5 - Proporção (%) de ácidos graxos em óleo extraído da polpa de buriti, oliva, canola e amendoim.....	76

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Características físicas e rendimento do buriti (<i>Mauritia Flexuosa</i>) antes e após o processo de liofilização.....	109
Tabela 2 – Características físico-químicas da polpa e subprodutos de buriti coletados em Água Branca – PI.....	110
Tabela 3 - Composição mineral de polpa e subprodutos de buriti coletados em Água Branca-PI, Brasil.	113
Tabela 4 – Percentual médio de ácidos graxos e fitosteróis em polpa e subprodutos de buriti coletados em Água Branca-PI, Brasil.....	115
Tabela 5 - Propriedades térmicas das amostras de buriti por DSC.....	117
Tabela 6 - Parâmetros reológicos das soluções do buriti obtidos pela aplicação do modelo da Lei da Potência.....	123

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Quantificação (mg/100g amostra) de fenóis, flavonoides, carotenoides, taninos condensados e hidrolisados em extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo liofilizados de buriti.....	150
Tabela 2 – Identificação de compostos por HPLC em amostras de partes do fruto de buriti.....	153
Tabela 3 – Valores médios e percentuais de compostos fenólicos totais da polpa, casca e endocarpo de buriti, antes e após digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	155
Tabela 4 - Correlação de Pearson (valores de R ²) entre compostos bioativos e capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti.....	163

CAPÍTULO 4

Tabela 1 - Sinais de toxicidade de Bioprodutos de buriti em camundongos <i>Swiss</i> fêmeas após administração aguda e subaguda.....	193
Tabela 2 – Efeitos dos extratos na avaliação de toxicidade aguda e subaguda em camundongos no teste de campo aberto.....	195
Tabela 3 - Efeitos dos extratos na avaliação de toxicidade aguda (n = 3) e subaguda	196

(n = 7) em camundongos no teste <i>rota Rod</i>	
Tabela 4 - Avaliação dos níveis de catalase, glutathiona reduzida (GSH) e superóxido dismutase (SOD) em hipocampo de camundongos tratados com extratos de polpa, casca e endocarpo de buriti, em doses repetidas (28 dias).....	198
Tabela 5 - Consumo de água, ração e peso corporal em camundongos tratados com extratos de partes do fruto buriti, de forma aguda e subaguda.....	200
Tabela 6 - Peso relativo úmido dos órgãos (g/100 de peso corporal) de camundongos tratados com extrato aquoso do fruto de <i>Mauritia flexuosa</i> nas doses de 300 e 2000 mg/kg (aguda) e 300 e 600 mg/kg (subaguda).....	201
Tabela 7 - Efeitos dos extratos aquosos de partes do fruto de buriti sobre os parâmetros bioquímicos de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas, tratamento agudo (n = 3) e subagudo (n = 7) por via oral.....	204
Tabela 8 - Efeitos dos extratos aquosos de partes do fruto de buriti sobre os parâmetros hematológicos de camundongos <i>Swiss</i> fêmeas após tratamento agudo (n = 3) e subagudo (n = 7) por via oral.....	206

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AAPH	2,2'-azobis-2-amidinopropano
ABTS ^{•+}	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
ALE	Atividade Locomotora Espontânea
ATT	Acidez titulável total
Aw	Atividade de água
ANOVA	Análise de Variância
ATC	Ácido tricloroacético
ATP	Trifosfato de Adenosina
CAT	Catalase
CL ₅₀	Concentração letal 50%
CL	Casca liofilizada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNT	Doenças crônico não transmissíveis
DPPH [•]	<i>2,2-difenil-1-picrilhidrazila</i>
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico
DL	Diâmetro longitudinal
DT	Diâmetro transversal
DZP	Diazepam
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EROS	Espécies reativas derivadas do oxigênio
ERNS	Espécies reativas derivadas do nitrogênio
EL	Endocarpo liofilizado
E.P.M.	Erro padrão da média
EPO	<i>European Patent Office</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GSH	Glutathiona reduzida
HCl	Ácido clorídrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio

i.p.	Via intraperitoneal
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
OH [•]	Radical hidroxila
LATIPAT	Banco Latinoamericano de Patentes
MVA	Ácido Mevalônico
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NaOH	Hidróxido de sódio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sódio
NO	Óxido Nítrico
PTF	Peso total do fruto
P _f	Peso final
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
P, D & I	Pesquisa, desenvolvimento e Inovação
PL	Polpa liofilizada
R ₁	Rendimento antes da liofilização
R ₂	Rendimento após liofilização
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico
USPTO	<i>United States Patent and Trademark Office</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
WIPO	<i>World Intellectual Property Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	25
2.1 Geral	26
2.2 Específicos	26
3. REFERENCIAL TEÓRICO	27
3.1. Bioprospecção com perspectivas para o aproveitamento integral de frutos.....	27
3.2. Liofilização de frutos, verduras e hortaliças.....	29
3.3. O buritizeiro (<i>Mauritia flexuosa</i> L).....	31
3.4. Ação antioxidante de compostos bioativos.....	36
3.5. Bioacessibilidade e biodisponibilidade.....	43
Referências	44
CAPÍTULO 1: ARTIGO DE REVISÃO	
Perfil fitoquímico, propriedades nutricionais e atividade farmacológica da <i>Mauritia flexuosa</i> (buriti): uma revisão.....	53
Resumo gráfico.....	54
Resumo.....	55
1. Introdução	58
2. Materiais e métodos	59
3. Resultados e Discussão	60
3.1 Resultados da busca de artigos científicos.....	60
3.2 Caracterização física e físico-química do fruto.....	63
3.3 Perfil fitoquímico.....	66
3.4 Atividades farmacológicas da <i>Mauritia flexuosa</i>	77
4. Conclusões e perspectivas	83
Referências.....	84
CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL	
Caracterização físico-química, análises térmicas e morfológicas de bioprodutos do buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	91
Resumo gráfico.....	92
Resumo.....	93
1. Introdução	96
2. Materiais e métodos	97
3. Resultados e discussão	108
4. Conclusão	124
Referências.....	125
CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL	
Ação quimiopreventiva <i>in vitro</i> e <i>ex vivo</i> de produtos de <i>Mauritia flexuosa</i> e bioacessibilidade simulada de compostos bioativos.....	130

Resumo gráfico.....	131
Resumo.....	132
1. Introdução.....	135
2. Materiais e Métodos.....	136
3. Resultados.....	150
4. Discussão.....	164
5. Conclusão.....	169
Referências.....	169
CAPÍTULO 4: PARTE EXPERIMENTAL	176
Toxicidade pré-clínica de bioprodutos liofilizados de buriti (<i>M. flexuosa</i>).....	
Resumo gráfico.....	177
Resumo.....	178
1. Introdução.....	181
2. Materiais e Métodos.....	182
3. Resultados e discussão.....	191
4. Conclusão.....	211
Referências.....	211
CAPÍTULO 5: Patente	
Agente antioxidante para aplicação em formulações de medicamentos, cosméticos e alimentos a partir do epicarpo em pó da <i>Mauritia flexuosa</i>	220
Resumo.....	221
Reinvidicações.....	222
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	224
ANEXOS	225
Anexo A.....	226
Anexo B.....	227
Anexo C.....	228
Anexo D.....	229
APÊNDICES.....	230



INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o processo de pesquisa e desenvolvimento (P&D) em busca de alimentos com propriedades funcionais, potencial antioxidante e outras propriedades farmacológicas teve maior atenção da comunidade científica. A indústria de alimentos busca técnicas eficazes para aumentar o tempo de prateleira dos alimentos, manter a segurança alimentar e a qualidade higiênico-sanitária e nutricional destes produtos, além de priorizar a boa aparência e qualidades sensoriais (SILVA et al., 2016), assim como há uma preocupação mundial com sustentabilidade e meio ambiente e este fato tem incentivado o estudo de inovações tecnológicas, incluindo a utilização de resíduos agroindustriais para aumentar a oferta de alimentos saudáveis, funcionais e certificados por órgãos de vigilância, como a ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (FAO, 2015; BRASIL, 2016).

No Brasil, é grande a quantidade de resíduos gerados no processamento industrial de frutas e vegetais. Tais resíduos são considerados partes não comestíveis (cascas, talos e sementes) e, muitas vezes, são subutilizadas e se perdem no processo de pós-colheita, armazenamento, manuseio ou mesmo descarte. Portanto, estudar formas de utilizar integralmente os alimentos é uma maneira de contribuir para o aumento da oferta de alimentos de grande valor nutricional, além de promover redução no volume de resíduos gerados pela indústria, melhorar a qualidade de vida e saúde da população (STORCK et al., 2013; BECKER et al., 2014).

No Nordeste Brasileiro, muitos frutos ainda são obtidos da natureza de forma extrativista e tradicional para o consumo de subsistência. A planta da espécie *Mauritia flexuosa*, mais conhecida como buritizeiro, está distribuída por toda a América do Sul e no Brasil Central, mais especificamente em onze estados (CANUDO et al., 2010). Seu óleo possui boa estabilidade e proteção contra a oxidação, uma característica de grande interesse para indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (SIQUEIRA et al., 2014; AQUINO et al., 2015; SILVA et al., 2016). Baseado em pesquisa de prospecção tecnológica realizada em 2016, observou-se que existem patentes referentes ao buriti: **BRPI0303404-6 B1** (BARRERA-ARELLANO, 2014) e **US20120251602** (OLIVIER et al., 2012), nas quais o óleo da polpa do buriti (*M. flexuosa* e/ou *Mauritia vinifera*) é utilizado na preparação de formulações cosméticas, capilares e farmacêuticas como potencializador da proteção solar, assim como fonte de carotenoides (pró-vitamina A) e vitamina E (tocoferóis e antioxidantes naturais). Entretanto, nessa prospecção tecnológica não foi encontrada patente direcionada para a utilização dos subprodutos do buriti como um produto possível de ser utilizado em diversas áreas da biotecnologia, inclusive na alimentação humana, apesar de existir artigos

científicos utilizando o endocarpo do fruto, na forma de pó, para o preparo de *cookies* (BECKER et al., 2014).

Ao identificar e estudar a composição nutricional de partes dos alimentos usualmente descartadas é possível direcionar melhor o seu uso em diversas aplicações tecnológicas. Além disso, pesquisar formas de prolongar o tempo de conservação destes produtos é essencial, e nesse caso, o processo de desidratação tem sido estudado e muito utilizado para ampliar o consumo de resíduos alimentares (SHOFIAN, 2011; SERNA-COCK et al., 2015; NAKAGAWA, OCHIAI., 2015). Os produtos liofilizados podem servir como ingredientes alimentares, com função de antioxidantes naturais, que retardam a peroxidação lipídica do alimento pronto e aumenta a vida útil do mesmo, uma alternativa viável para a substituição de aditivos sintéticos (ARMENTEROS et al., 2016).

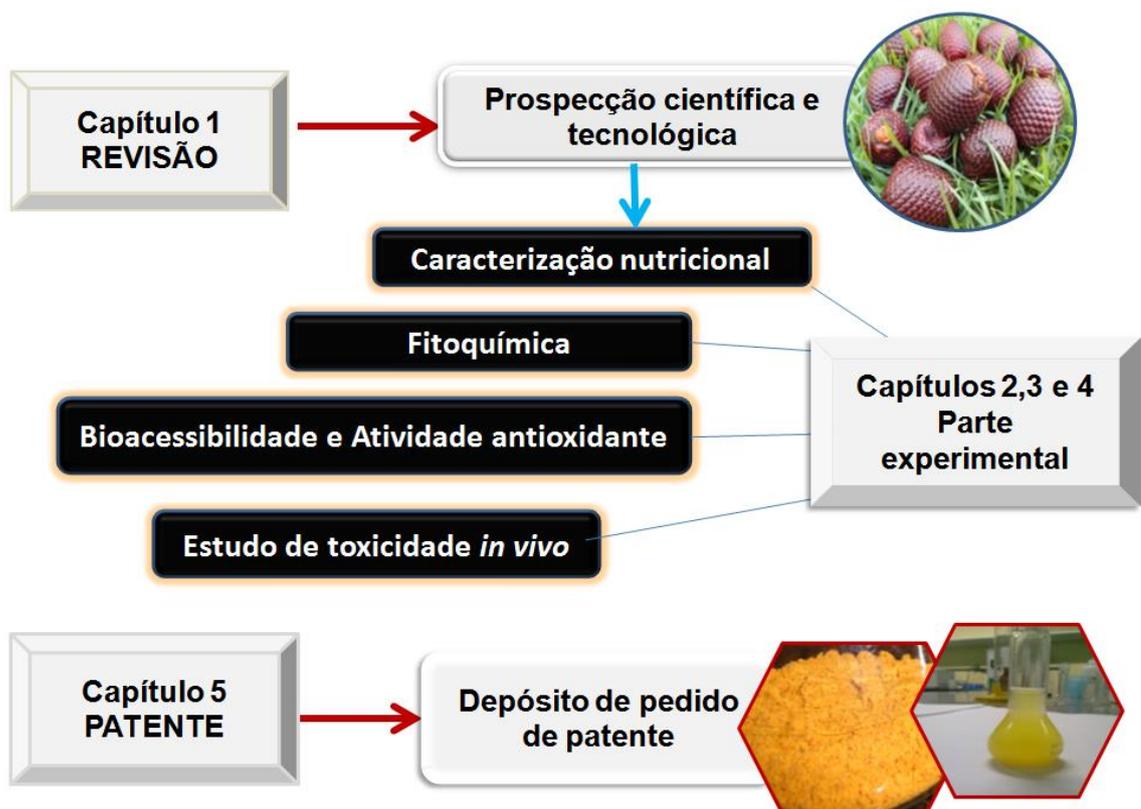
Diante do exposto, a tese intitulada: “**Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e à bioprospecção de frutos regionais**” está estruturada em: **introdução, objetivos** (gerais e específicos), **referencial teórico** e **cinco capítulos** (Figura 1) originados de artigos científicos submetidos a revistas internacionais com ampla divulgação na comunidade científica, além de pedido de depósito de registro de patente.

O **referencial teórico** aborda os aspectos mais importantes a respeito do papel de frutas e de seus subprodutos como ponto de partida para a descoberta de novos ingredientes funcionais e substâncias bioativas. Para o **primeiro capítulo** realizou-se uma prospecção científica, a fim de analisar o estado da arte da espécie *Mauritia flexuosa*, fornecendo subsídios para estudos posteriores. O **segundo capítulo** relata a caracterização físico-química, reológica e morfológica de polpa de buriti e seus subprodutos liofilizados, além da análise do perfil de minerais e ácidos graxos dessas partes do fruto em estudo. O **terceiro capítulo** complementa o anterior, com a caracterização de compostos bioativos e dados de bioacessibilidade de fenólicos totais, a fim de simular a digestão dessas substâncias no trato gastrointestinal (TGI), além disso, foi avaliado por intermédio de testes *in vitro* e *ex vivo* a capacidade antioxidante das amostras. O **quarto capítulo** demonstra os efeitos de toxicidade aguda e subaguda, conforme *Guidelines for the Testing of Chemicals* (OECD), em amostras em questão. E por fim, o **quinto capítulo** exhibe a solicitação do depósito de registro do pedido de patente, entregue no NINTEC – Núcleo de Tecnologia e Transferência de Inovação da UFPI, o qual seguirá para o **Instituto Nacional da Propriedade Industrial** (INPI), uma vez que há uma necessidade crescente da transferência de tecnologia entre universidade e indústria, com o objetivo de favorecer a

construção de pontes que beneficiem as ligações entre os setores econômico e social. Na sequência foram apresentadas as **considerações finais** obtidas a partir desta tese.

Assim, os resultados da presente tese servirão como base de pesquisa para estudos de desenvolvimento de produtos utilizando o buriti como uma matéria-prima renovável e contribuirão para o crescimento econômico de comunidades nordestinas que tem como fonte de sustento a utilização da polpa de buriti, lugares onde a casca e o endocarpo do fruto ainda são resíduos com pouco ou nenhum tipo de aproveitamento. Essas subpartes são comumente descartadas ou subutilizadas como ração para animais, especialmente em municípios localizados no Estado do Piauí.

Figura 1 - Organograma da tese: Caracterização nutricional, capacidade antioxidante e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti).



Fonte: Autoria própria

REFERÊNCIAS

AQUINO, J. S.; SOARES, J. K. B.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T. C. M.; MASCARENHAS, R. J.; TAVARES, R. L.; STAMFORD, T. L. M. Effects of Dietary Brazilian Palm Oil (*Mauritia flexuosa* L.) on Cholesterol Profile and Vitamin A and E Status of Rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015.

ARMENTEROS, M.; MORCUENDE, D.; VENTANAS, J.; ESTÉVEZ, M. The application of natural antioxidants via brine injection protects Iberian cooked hams against lipid and protein oxidation. **Meat Science**, v. 116, p. 253–259, 2016.

BARRERA-ARELLANO, D. Uso do óleo da polpa dos frutos de palmeiras do gênero *Mauritia*, como potencializador da proteção solar e como fonte de carotenoides (pró-vitamina a) e vitamina e (tocoferóis) antioxidantes naturais em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos, **BRPI0303404-6 B1**, 2014.

BECKER, F. S., DAMIANI, C., MACHADO, A. A. M., BORGES, P. R. S., VILAS, E. V.B. Incorporation of Buriti Endocarp Flour in Gluten-free Whole Cookies as Potential Source of Dietary Fiber. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, p. 344 - 350, 2014.

MARQUES, L.G.; PRADO, M.M.; FREIRE, J.T. Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. **Food Science Technology**, v. 42, p.1232–37, 2009.

NAKAGAWA, K.; OCHIAI, T. A mathematical model of multi-dimensional freeze-drying for food products. **Journal Food Engineering**, v.161, p. 55–67, 2015.

OLIVIER, D. et al. Composition with improved tanning effect, **US20120251602**, 2012.

RANI, V.E.; PAULRAJ, S. Impact of dietary intervention with a functional food supplement to combat anemia - the blood iron metabolic disorder among the coffee plantation laborers. **Functional Foods in Health and Disease**, v.3, p. 21-36, 2013.

SILVA, M.F.; LOPES, P.S.; SILVA, C.F.; YOSHIDA, C.M.P. Active packaging material based on buriti oil – *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, p. 1-9, 2016.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B.; BASSOL, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 537-543, 2013.

SERNA-COCK L.; VARGAS-MUNÓZ D.P.; APONTE A.A. Structural, physical, functional and nutraceutical changes of freeze-dried fruit. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 442-450, 2015.

SHOFIAN, N.; HAMID, A.; OSMAN, A.; SAARI, N.; ANWAN, F.; PAK DEK, M.; HAIRUDDIN, M. Effect of freeze-Drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12, p. 4678-4692, 2011.

SIQUEIRA, E.P.; ANDRADE, A.A.; de SOUZA-FAGUNDES, E.M.; RAMOS, J.P.; KOHLHOFF, M.; NUNES, Y.R.; COTA, B.B. *In vitro* antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.8, p. 1408-17, 2014.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospeção de frutos regionais



Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar estudo de bioprospecção abrangendo o preparo da polpa, casca e endocarpo do fruto de buriti (*Mauritia flexuosa*) liofilizados na forma de pó, assim como realizar a caracterização físico-química, fitoquímica e antioxidante, bem como analisar a bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos e a toxicidade *in vivo* da polpa, casca e endocarpo do fruto de buriti (*Mauritia flexuosa*).

2.2 Específicos

- Desenvolver uma prospecção científica e tecnológica em bases de dados científicos sobre o uso e as aplicações terapêuticas da espécie *Mauritia flexuosa* e/ou seus constituintes e derivados;
- Preparar por desidratação à frio, amostras de polpa, casca e endocarpo em pó do fruto de buriti, como insumos para a pesquisa
- Realizar a caracterização física, térmica, físico-química e o perfil de minerais e ácidos graxos em amostras de polpa, casca e endocarpo em pó liofilizados;
- Realizar o *screening* de compostos biativos, investigar a bioacessibilidade *in vitro* e avaliar a atividade quimiopreventiva *in vitro* e *ex vivo* de polpa de buriti e seus subprodutos;
- Mensurar a toxicidade aguda e subaguda da polpa, casca e endocarpo em animais e quantificar parâmetros bioquímicos, hematológicos, comportamentais e histológicos em camundongos;
- Elaborar um pedido de registro de depósito de patente, referente à aplicação de farinhas de epicarpo (casca) de buriti como ingrediente de alimentos funcionais de uso humano para ser submetido ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) por meio do Núcleo de Inovação Tecnológica da Universidade Federal do Piauí.



3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Bioprospecção com perspectivas para o aproveitamento integral de frutos

A bioprospecção é uma das maneiras de se extrair o valor econômico da biodiversidade, não é algo novo e tem sido definida de várias formas, pois se trata de um tópico abrangente e dependendo da área do conhecimento que se aproprie do termo é conceituada de modo diferente. E “bioprospectar” é realizar uma busca sistemática por organismos, compostos orgânicos e processos que sejam úteis para a humanidade, com potencial econômico e, eventualmente, levar ao desenvolvimento de um produto (IPEA, 2011). Para tanto, ainda são muitos os desafios para serem enfrentados como: aprimorar a legislação de acesso e repartição dos benefícios gerados, investir em infraestrutura de pesquisa que gere recursos humanos regionais qualificados, incentivar a participação legal do capital privado, combater a apropriação ilegal de informação e material, além de pressionar órgãos internacionais a regulamentar o patenteamento de produtos advindos da biodiversidade.

Como o Brasil abriga pelo menos 20% das plantas do planeta, e isto significa amplas oportunidades econômicas para o desenvolvimento de novos produtos, sejam eles alimentos, fármacos e nutracêuticos, é relevante destacar que essas oportunidades vêm acompanhadas também de maior responsabilidade por esse patrimônio (REIFSCHNEIDER et al., 2015), de forma que a utilização econômica aliada às políticas públicas adequadas de controle é um dos meios mais efetivos para preservação da diversidade biológica brasileira. Entretanto, os recursos do país estão distantes de serem aproveitados para geração de renda, menos ainda de maneira ambientalmente favorável e socialmente justa (FAO, 2015).

Nesse contexto, é válido dizer que apesar de ainda possuir grandes obstáculos, as pesquisas científicas promoveram avanços no panorama da bioprospecção no Brasil, incentivando a realização de bioprospecções como ferramenta na busca pelo desenvolvimento sustentável, agregando valor econômico a subprodutos da agroindústria e que muitas vezes não são utilizados pela indústria de alimentos nem pelo consumidor (DAMIANI et al., 2011; VERONEZI, JORGE, 2012; BECKER et al., 2014). Ao oferecer a estes subprodutos um fim mais nobre e de valor comercial, contribui-se para aumentar as fontes viáveis de matéria-prima, reduz-se os custos operacionais das indústrias e aumentam as possibilidades de desenvolvimento de novos produtos alimentícios, nutracêuticos e fitoquímicos, ricos em compostos bioativos e de relevante valor nutricional e tecnológico.

A busca pelo desenvolvimento sustentável é um grande desafio para muitos países, inclusive para o Brasil, país de grande biodiversidade e com destaque entre os maiores

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

produtores de frutas no mundo. Essa produção é na maior parte absorvida pelo mercado interno e dentre as principais frutas produzidas estão bananas, maçãs, uvas, melões e frutas tropicais, especialmente manga, abacate e abacaxi. Porém, não se sabe ao certo, as áreas exatas de cultivo e os volumes de produção, pois grande parcela da produção ocorre em pequenas propriedades para autoconsumo e venda em mercados locais (FAO, 2015).

Na última década, maior ênfase tem sido dada à produção de produtos orgânicos. A assistência técnica e medidas de suporte estão sendo ampliadas e destinadas a agricultores familiares envolvidos nesse tipo de cultivo (FAO, 2015). A região Nordeste do Brasil tem sido grande produtora de frutos. No entanto, o processamento de grande parte desses frutos é destinado à produção de sucos naturais, doces em conservas e extratos de polpas, e apesar de boa parte do peso dos frutos utilizados para esses fins serem constituídas de subprodutos como cascas, folhas e sementes, estas partes são usualmente consideradas não comestíveis e, portanto, são, muitas vezes, descartadas (FERNANDES, 2007),

As ações e pesquisas relacionadas ao aproveitamento de resíduos gerados no processamento de alimentos atuam nas questões sociais e econômicas do país, pois o aproveitamento integral de frutas e verduras favorece a redução da deficiência de vitaminas e minerais, problemas antigos de saúde pública, além de influenciar positivamente em questões ambientais, evitando os descartes indevidos que poluem o ambiente (PINCEMAIL et al., 2012; ORSAVOVA et al., 2015). De fato, os estudos na área de bioprospecção de produtos naturais e biotecnologia sustentável devem avançar para melhorar a infraestrutura tecnológica brasileira e ampliação do acesso da população à serviços e produtos de baixo custo (PINCEMAIL et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014; ORSAVOVA et al., 2015).

Pesquisas de bioprospecção com perspectivas para conhecimento e aplicação tecnológica de frutos e vegetais de forma integral, por intermédio da utilização de seus subprodutos como fonte de produtos terapêuticos, tem sido objeto de ampla aceitação e interesse por parte dos estudiosos da área de saúde, desencadeando uma intensa produção acadêmica com resultados obtidos em pesquisas não clínicas (SOUZA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; BECKER et al., 2014; MARIANI et al., 2015) e clínicas (MATTHAN et al., 2009; SOLÀ et al., 2010; RANI, PAULRAJ, 2013).

Esta pesquisa, por meio dos seus resultados, fornecerá embasamento para o desenvolvimento de estudos de novas formulações de alimentos funcionais, assim como a elaboração de nutracêuticos, cosméticos e formas farmacêuticas. Vale destacar que o estilo de vida moderno atua direta ou indiretamente na saúde das pessoas, inserindo novas necessidades, mudando a rotina e, inclusive, transformando hábitos alimentares. Esses fatores ampliam o espaço de alimentos industrializados na vida dos consumidores, de modo

que as novas tecnologias e o uso de técnicas como a liofilização, que matenham as propriedades nutricionais, sabor e aroma do alimento, e ainda prolongue a vida de prateleira do mesmo, é algo que se busca com grande desempenho em tecnologia de alimentos.

3.2 Liofilização de frutos, verduras e hortaliças

A liofilização é uma técnica de desidratação à frio aplicada em alimentos que ganhou espaço no setor da indústria alimentícia desde a época da Segunda Guerra Mundial, e apesar de sua implantação apresentar custo elevado, devido à aquisição de equipamentos caros, os alimentos que passam pelo processo de liofilização mantêm os atributos de qualidade organolépticas e nutricionais que são benéficos ao consumidor e rentáveis para as empresas (EVANGELISTA, 2005). Também denominada de criodesidratação ou criosecagem, a liofilização é um processo diferenciado de desidratação de produtos, pois ocorre em condições especiais de pressão e temperatura, possibilitando que a água previamente congelada e em estado sólido, passe diretamente para o estado gasoso, pelo processo de sublimação. Este é o princípio fundamental deste processo de conservação aplicado em produtos alimentares a fim de reduzir as perdas dos componentes voláteis ou termosensíveis (CELESTINO, 2010). Essa técnica é considerada um dos mais nobres processos de conservação de produtos biológicos como sangue, enzimas e leite humano, além de ser aplicada a uma variedade de produtos alimentícios, porque reúne os dois métodos mais confiáveis de conservação, que é a congelação e a desidratação, isentos de conservantes e utilização de produtos químicos (MARTINS et al., 2011). Portanto, o processo de liofilização tem por objetivo estabilizar produtos, a partir da diminuição da atividade de água (A_w) (**Tabela 1**), usando uma série de operações em que o material é submetido durante o processamento: congelação, sublimação, secagem a vácuo e armazenagem do produto.

Tabela 1 – Teor máximo de umidade para diversos alimentos liofilizados.

Alimento	Umidade máxima (%)
Amidos e féculas	13 a 14
Café solúvel	3
Frutas liofilizadas	5
Frutas secas ou dessecadas	25
Massas alimentícias ou macarrão fresco	30
Massas alimentícias ou macarrão seco	13
Sopas desidratadas	10

Fonte: Oetterer (2006).

As vantagens do método de liofilização refletem na qualidade final do alimento desidratado como na melhor preservação do ácido L-ascórbico, de antocianinas, do sabor, da porosidade e de características organolépticas (IVANČEVIĆ, MITROVIĆ, BRKIĆ, 2012). Portanto, os alimentos que passam pelo processo de liofilização apresentam alta retenção das características sensoriais e maior qualidade nutricional, ampliando a vida de prateleira quando corretamente embalados e possibilitando a permanência em temperatura ambiente por serem microbiologicamente seguros (devido à redução da A_w). A preservação do aroma dos alimentos ocorre porque os compostos aromáticos voláteis não são absorvidos pelo vapor da água e ficam presos na matriz do alimento durante o processo de liofilização, sendo possível uma retenção de 80 a 100% do aroma do alimento. Além disso, a liofilização facilita de reduz os custos no transporte de alimentos, devido à leveza do produto final e por não necessitarem de refrigeração (EVANGELISTA, 2005; ORDÓÑEZ, 2005).

É fundamental ressaltar que a venda de frutas processadas no mercado nacional e internacional vem aumentando devido à melhoria na qualidade dos produtos ofertados, maior procura de produtos prontos para o consumo e o fato de ampliar a preservação e a disponibilidade o ano inteiro de frutas sazonais (SHOFIAN et al., 2011). Além do valor comercial agregado às frutas, a secagem reduz o desperdício e as perdas pós-colheita. Desse modo, a liofilização é o melhor método de secagem para materiais termosensíveis e para a obtenção de produtos desidratados com elevada qualidade e um percentual de rendimento importante para a indústria (**Tabela 2**) (SERNA-COCK et al., 2015).

As frutas, legumes e hortaliças liofilizadas dão origem a inúmeros produtos, alguns deles de elevado consumo no Brasil como *mix* para sopas, práticos para viagens e para o dia a dia; produtos em substituição às polpas congeladas; sabores e aromas naturais para bebidas, em iogurtes, bolos e sorvetes; temperos práticos, corantes naturais, produtos cosméticos e fitoterápicos, molhos prontos ou semi-prontos, além de aditivos nutricionais com ação antioxidante natural (OETTERER, 2006; CELESTINO, 2010; SHOFIAN et al., 2011; SERNA-COCK et al., 2015).

Ao observar todos esses dados referenciados na literatura científica sobre o processo de liofilização, sugere-se que esta técnica é viável para aproveitar o excedente da produção de frutas, verduras e hortaliças da agroindústria brasileira e disponibilizar para o mercado consumidor, produtos estáveis e seguros (OETTERER, 2006). De modo que, executar esse processo em frutos tropicais como o buriti, de forma integral, poderá ser uma forma importante de agregar valor a esse produto regional e seus subprodutos.

Tabela 2 - Rendimento para produtos desidratados.

Produto	Rendimento (%)
Batata desidratada	10
Beterraba desidratada	7,7
Beterraba em pó	7,7
Carne liofilizada	20
Cebolinha desidratada	5
Cenoura desidratada	6
Frango liofilizado	20
Mandioquinha desidratada	20
Milho verde liofilizado	25
Morango liofilizado	5
Palmito liofilizado	6,6
Tomate em pó	5

Fonte: Oetterer (2006).

3.3 O Buritizeiro (*Mauritia flexuosa* L.)

3.3.1. Aspectos botânicos, agronômicos e econômicos

O buritizeiro é uma palmeira da família Arecaceae. Pertencem a esta família, algumas plantas muito conhecidas, como o coqueiro e a tamareira, abrangendo cerca de 240 gêneros e 2.600 espécies distribuídas nas subfamílias *Calamoideae*, *Nypoideae*, *Coryphoideae*, *Ceroxyloideae* e *Arecoideae*, distribuídas pelo mundo, mas concentradas em regiões tropicais e subtropicais (DRANSFIELD et al., 2005).

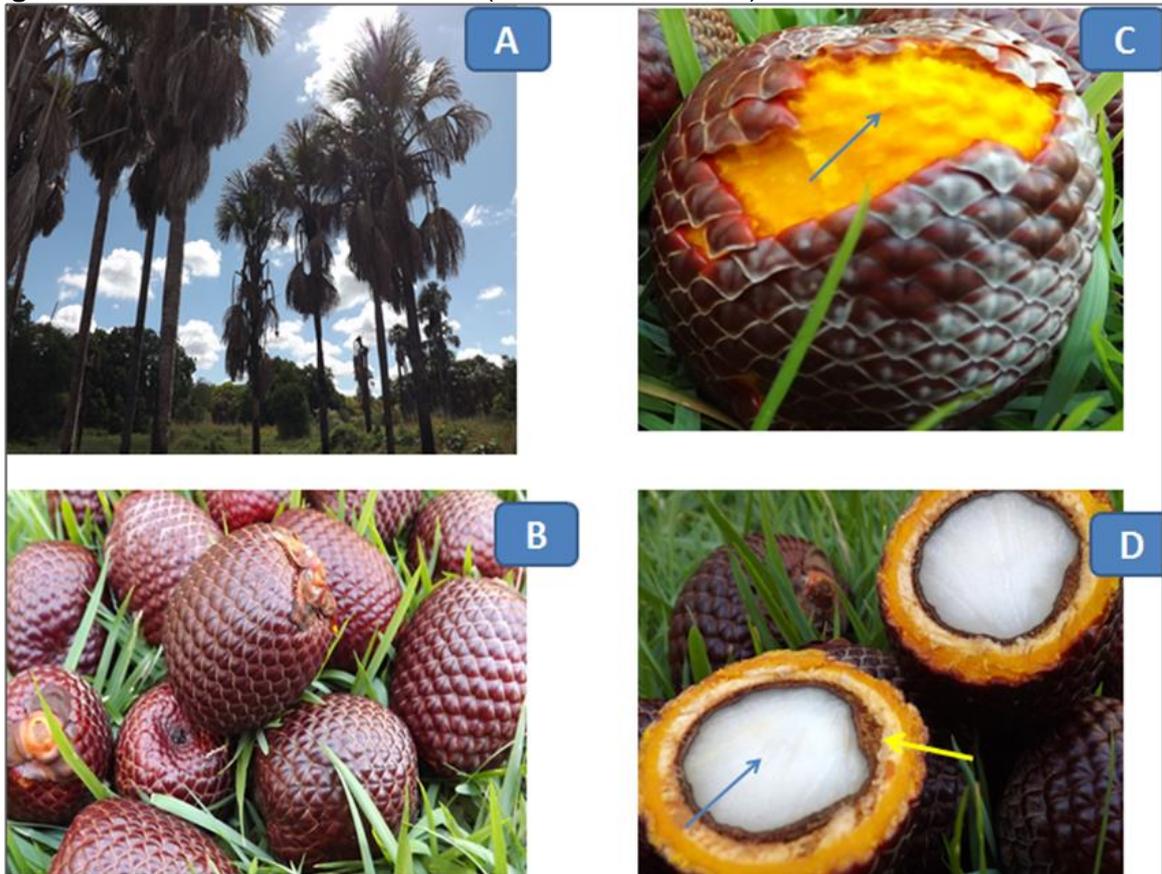
A *Mauritia flexuosa* apresenta ampla distribuição geográfica na América do Sul, em áreas alagadas no Nordeste do Brasil (nos limites da Caatinga) e no Cerrado do Brasil Central, conhecidas por veredas ou buritizais (LORENZI, 2004; CANUDO et al., 2010). Esses buritizais ocorrem em solos mal drenados (brejosos). Tais brejos são compridos e estreitos (entre 10 e 100m de largura), geralmente com estrutura florestal, que se localizam ao redor de pequenos cursos d'água nas áreas de nascente, onde o relevo é suave (**Figura 1A**). O solo é hidromórfico e permanentemente inundado, com elevada acidez e teor de alumínio, rico em matéria orgânica e pobre em cálcio e fósforo (TONIATO et al., 1998).

Essas palmeiras são caracterizadas por serem altas, dióicas, quando adultas, com até 30 m e caule de 20-50 cm de diâmetro, solitário e liso (**Figura 1A**) (MARTINS et al., 2010). Os frutos (**Figura 1B**) são castanho-avermelhados, oblongoglobosos, medindo entre 4-5 cm e possuem o epicarpo ou casca, que são escamas sobrepostas de cerca de 6 mm (**Figura 1C**), mesocarpo carnoso (**Figura 1C**), além de endocarpo (**Figura 1D**), que possui

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

baixa densidade e grande quantidade de fibras. As sementes (ou endosperma) do fruto (**Figura 1D**) são revestidas pelo endocarpo e podem ser classificadas como recalitrantes, em virtude de sua dureza. Elas ocupam a maior parte do volume do fruto, com 4,86 g de massa e 57% de umidade (LORENZI et al., 2004; MARTINS et al., 2010).

Figura 1 - Buritizeiro e frutos de buriti (*Mauritia flexuosa* L.).



(A) Árvore adulta da espécie *Mauritia flexuosa* L. (buritizeiro), (B) Fruto inteiro da *Mauritia flexuosa* L. (C) Mesocarpo (seta azul) e epicarpo da *Mauritia flexuosa* e (D) Endocarpo (seta amarela) e semente (seta azul) da *Mauritia flexuosa* L. **Fonte:** Arquivo pessoal.

A emergência das plântulas dessa palmeira ocorre entre três e quatro meses após a semeadura. Essas plântulas apresentam crescimento lento e a produção dos frutos pode levar entre sete a oito anos (STORTI, 1993). No Brasil Central, a floração se estende de novembro a abril e a polinização é feita por abelhas do gênero *Trigona*, principais visitantes das flores pistiladas e estaminadas. A produção de frutos é plurianual e os primeiros frutos começam a se desenvolver em fevereiro e permanecem em crescimento por pelo menos oito meses, assim, em outubro começa a dispersão dos frutos, que só termina em julho do ano seguinte (HORN, GILMORE, ENDRESS, 2012; SAMPAIO, 2012b).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

O buriti destaca-se pelo uso de suas folhas para a cobertura de habitações rústicas e para confecção de utensílios, tecidos, cordas, redes, chapéus, bolsas e artesanato (SAMPAIO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2009; NASCIMENTO et al., 2010; MARTINS, et al., 2010; MARTINS et al., 2011). Inúmeros produtos úteis do buritizeiro são aproveitados pelas populações locais do Brasil, tanto para sua alimentação como para sustento em atividades de importância econômica e cultural (LORENZI, 1992; LORENZI et al., 2004). Entretanto, vale ressaltar que a demanda por frutos de buriti no Brasil ainda é pequena. Mesmo em regiões com presença marcante de buritizais, o consumo ainda é concentrado regionalmente, apesar do crescente e relevante potencial econômico desse fruto. Percebe-se que em algumas regiões com cultivo elevado do fruto, o principal mercado para subprodutos do buritizeiro é a venda do suco, feita com a polpa acrescida de água em quantidades variadas. A polpa *in natura* é altamente perecível, e muitos produtores extraem o óleo dessa parte do fruto ou vendem a mesma após processo de secagem artesanal, com o propósito de ampliar o tempo de comercialização e melhorar a lucratividade (BARBOSA et al., 2009; SAMPAIO, 2012b).

O valor econômico da comercialização dos produtos de buriti está entre as principais fontes de renda para muitas famílias, junto com a criação de gado e cultivo de alimentos para consumo próprio (BARBOSA et al., 2009; SAMPAIO et al., 2012a). Portanto, é importante observar que a forma de exploração atual do buriti é o extrativismo e ainda não são conhecidos plantios comerciais desse fruto, apesar de toda a sua potencialidade econômica. Praticamente não há trabalhos que contabilizem a importância que o extrativismo desempenha na formação econômica social do Cerrado (MARTINS et al., 2010; HADA et al., 2011). Adicionalmente, vale dizer que há uma diversidade de formas para utilização da palmeira do buriti, tanto na alimentação (fruto) quanto na economia doméstica em uma comunidade (MORAES, GUTJAHN, 2009; SAMPAIO, 2012a) e em virtude da falta de conhecimento e orientação adequada, o homem não aproveita de forma satisfatória e sustentável os benefícios que a natureza lhe proporciona.

3.3.2. Aspectos nutricionais e farmacológicos

Em pesquisas atuais, o buriti possui promissores resultados nutricionais e farmacológicos (ZANATTA et al., 2010; CORDEIRO et al., 2015; AQUINO et al., 2015; MILANEZ et al., 2016; SILVA et al., 2016), além de está inserido na categoria de alimento funcional pela sua composição nutricional, pois apresenta elevado conteúdo de nutrientes como carotenóides, vitamina A, C e E, compostos fenólicos, ácidos graxos essenciais e

fibras alimentares (CASE et al., 2007; MANHÃES, SABAA-SRUR, 2011; AQUINO et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2014; AQUINO et al., 2015; MILANEZ et al., 2016).

De acordo com a Resolução nº 19/1999 da ANVISA, a alegação de propriedade funcional em um alimento, é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que um determinado nutriente ou não nutriente tem em relação ao crescimento, desenvolvimento, manutenção e demais funções normais do organismo humano (BRASIL, 2016). Além disso, o *International Life Sciences Institute of North America* (1995) definiu alimento funcional como aquele que, em virtude de ter componentes alimentares bioativos, são capazes de promover mais benefícios à saúde, além da nutrição básica.

A evolução da Ciência da Nutrição permitiu que muito mais se saiba atualmente sobre a ação de cada nutriente no organismo (COZZOLINO, 2012) e diante das possibilidades de uso do fruto de buriti como alimento funcional ou como um nutracêutico, devido suas diversas atividades farmacológicas já identificadas (AQUINO et al., 2012; KOOLER et al., 2013; SIQUEIRA et al., 2014; AQUINO et al., 2015), vale aqui descrever a diferença entre um alimento funcional e um nutracêutico. Segundo Zeisel (1999), nutracêuticos são suplementos alimentares que contêm a forma concentrada de um composto bioativo isolado do alimento, portanto, é apresentado separadamente da matriz alimentar e utilizado com a finalidade de melhorar a saúde, em doses que excedem o obtido em alimentos.

O papel da dieta vem sendo avaliado em estudos clínicos e epidemiológicos e já foi estabelecido que a quantidade e o tipo de gordura alimentar (qualidade) exercem influência sobre fatores de risco cardiovasculares e processos inflamatórios (SNODGRESS et al., 2013; IGBAL, 2014). O excelente valor nutricional do óleo de buriti é confirmado por pesquisas que investigam sua relevância e características nutricionais (MANHAES, 2007; DARNET et al., 2011; AQUINO et al., 2012; AQUINO et al., 2015; SILVA et al., 2016). Portanto, do óleo extraído desse fruto, é possível produzir dois tipos de ácidos graxos, amplamente usados em indústrias químicas e alimentícias. Da polpa dos frutos é extraído o ácido oléico e das sementes, obtém-se o ácido láurico. Baseado em estimativas de Cymerys, Fernandes e Rigamonte-Azevedo (2005), com uma quantidade de 150 plantas fêmeas por hectare, o buriti pode produzir até 3,6 toneladas/hectare de óleos oléicos, quantidade superior à produção dos óleos frequentemente utilizado no país como soja, girassol e amendoim.

De modo complementar, é possível observar que a proporção de ácidos graxos insaturados identificados na polpa do buriti é semelhante aos encontrados no azeite de oliva e amendoim (DARNET et al., 2012; ORSAVOVA et al., 2015; JANG et al., 2015). O Azeite

de oliva e de amendoim são considerados de excelente valor nutricional pela associação com a redução do risco de doenças cardiovasculares (DCV) e, atualmente, produtos de grande procura pelo consumidor preocupado com a alimentação saudável (NOWAK et al., 2016).

Em relação aos aspectos farmacológicos pesquisados até o momento sobre o fruto de *M. flexuosa*, vale destacar que todas as propriedades farmacológicas desse fruto e de partes da palmeira, como folhas e raízes, foram detalhadas no artigo de revisão descrito no **Capítulo 1** da presente Tese. Para o referencial teórico, foi realizado levantamento das principais substâncias bioativas e as propriedades farmacológicas já identificadas na polpa do fruto (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Principais substâncias bioativas e propriedades farmacológicas de polpa de buriti.

Substâncias bioativas	Uso etnofarmacológico	Referências
Carotenoides e tocoferóis	Anti-hipovitaminose A	Medeiros et al (2015)
	Antibacteriana	Rufino et al (2010)
	Anti-inflamatória	Candido, Silva, Agostini-Costa (2015)
	Antioxidante	Zanatta et al (2010)
	Antitumoral	Aquino et al (2012)
	Ação fotoprotetora	
Ácidos graxos	Cicatrizante	Batista et al (2012)
	Antibacteriana	Siqueira et al (2014)
	Antioxidante	Aquino et al (2015)
	Antitumoral	Case et al (2007)
	Hipolipemiante	Darnet et al (2011)
Ácido protocatecuico	Antioxidante	Bataglion et al (2014)
	Hipoglicemiante	
Ácido maurítico *	Anti-inflamatória	
	Citotoxicidade	Koolen et al (2013)
Flavonoides	Anti-inflamatória	Bataglion et al (2014)
	Antimicrobiana	
	Antioxidante	

Fonte: Autoria própria.

* Substância extraída da raiz da *M. flexuosa*.

3.3.3 Aspectos Toxicológicos

Os frutos e demais produtos de origem vegetal não são inócuos ou isentos de toxicidade pelo simples fato de serem naturais e também não são desprovidos de riscos apenas por serem usados como alimentos, fitoterápicos ou nutracêuticos. No Brasil e no mundo, tem crescido o interesse científico por produtos naturais, e em muitos países em desenvolvimento, tem sido comumente utilizado a medicina alternativa e o uso de fitoterápicos, por ser um tipo tratamento mais acessível e de baixo custo. Entretanto,

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

pesquisas devem ser realizadas para determinar a eficácia e toxicidade desses produtos empregados na medicina popular (BRAZ FILHO, 2010).

É importante considerar que efeitos toxicológicos eventualmente poderão existir, mesmo considerando que esses compostos estão naturalmente presentes nos alimentos, especialmente com o uso de suplementos e em formulações nutraceuticas, onde a utilização de doses está normalmente acima das encontradas na matriz alimentar, com possibilidade de causar algum efeito adverso não conhecido. Portanto, todos os efeitos toxicológicos deverão ser pesquisados em ensaios não clínicos e clínicos bem conduzidos, para que haja uma prescrição segura de produtos naturais e sua eficácia possa reduzir o risco de doenças, além de minimizar efeitos colaterais comumente existentes no tratamento convencional.

Ao se recomendar a utilização de um alimento com uma finalidade específica para a saúde e a população em geral não observar nenhum sinal de eficácia, estaremos pondo em risco toda a credibilidade da Ciência da Nutrição que promete muito no futuro e que, certamente, poderá contribuir para a promoção da saúde e melhoramento dos índices de desenvolvimento do país (COZZOLINO, 2012). Nesse contexto, após extensa pesquisa bibliográfica, não foram localizados artigos científicos sobre a toxicidade de polpa, casca e/ou endocarpo do fruto de *M. flexuosa*, sugerindo que este é um campo inexplorado e importante para pesquisas na busca do conhecimento sobre o fruto e seus derivados.

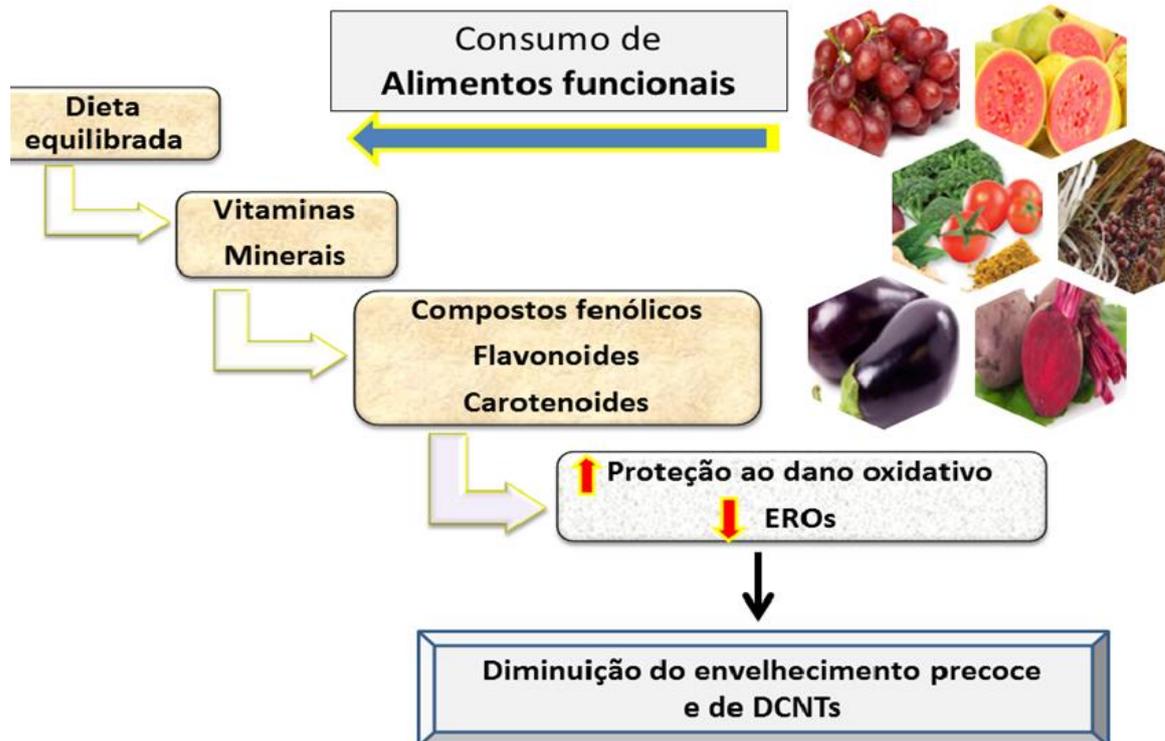
Como parte do presente estudo, analisou-se também a toxicidade *in vitro* e *in vivo* do fruto e de seus derivados em ensaios biológicos envolvendo células e mamíferos de laboratório, além de métodos mais rápidos e simples, como o bioensaio com o microcrustáceo *Artemia salina*. É muito comum o uso de *A. salina* L. para avaliação de citotoxicidade em estudos de extratos de plantas indicadas pela medicina popular, seja para as concentrações usuais como para o monitoramento dos fracionamentos cromatográficos de estudos fitoquímicos (LACERDA et al., 2011). Porém, este é um teste que considera apenas o padrão de mortalidade aguda e em estudos mais detalhados para avaliação da toxicidade em extratos de produtos naturais bioativos como na presente Tese, fez-se necessário empregar outros modelos *in vivo* para avaliação de toxicidade aguda e subaguda.

3.4 Ação antioxidante de compostos bioativos

A partir da elucidação dos efeitos nocivos do excesso de radicais livres no organismo humano, ganhou destaque nos últimos anos, pesquisas envolvendo produtos naturais com a presença de compostos bioativos (CBs) que possuem potencial antioxidante (FARBSTEIN et al., 2010; EFRAIM et al., 2011; ZHANG et al., 2016; WEIGLA et al., 2016; DJENANE et al.,

2016). Esses antioxidantes neutralizam os radicais livres, porém ao ocorrer qualquer desequilíbrio entre a produção e a remoção destes radicais pelas defesas antioxidantes, surgem alterações funcionais que estão associadas ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis - DCNT (PANZIERA et al., 2011; CAROCHO et al., 2013) (**Figura 2**).

Figura 2 - Proteção contra o dano oxidativo da membrana, mediada pela dieta.



Fonte: Autoria própria.

Além da linha primária de defesa antioxidante, realizada pelas enzimas superóxido-dismutases, peroxidases, catalases e glutatiónas-peroxidases, inúmeras substâncias presentes na dieta agem como antioxidantes, que possuem como mecanismos de ação mais comuns, observados *in vitro*, a transferência de hidrogênio, doação de elétrons e quelação de metais (MOON, SHIBAMOTO., 2009; SRDIĆ-RAJIĆ, KONIĆ RISTIĆ., 2016; AGIL et al., 2016). Essas substâncias antioxidantes exógenas podem ser de origem natural ou sintética, entretanto, nessa tese ressaltaremos a importância dos antioxidantes naturais, que são aqueles encontrados em frutos, vegetais, legumes, especiarias e chás, além de raízes, folhas, caules, folhas ou mesmo em sementes de frutos. O consumo de antioxidantes associado a uma dieta equilibrada contribui para a promoção de defesas contra o ataque de radicais livres, com consequentes propriedades benéficas à saúde humana (PANZIERA et al., 2011; AGIL et al., 2016).

Vale lembrar ainda que os antioxidantes de origem natural são ricos em substâncias fitoquímicas, conhecidos como compostos bioativos, que variam bastante conforme estrutura química e as funções biológicas, dentre estes, tem-se os compostos fenólicos, carotenoides, flavonoides, taninos e esteróis vegetais, que apesar das diferenças estruturais, possuem características comuns: são substâncias orgânicas, geralmente de baixo peso molecular, não sintetizadas pelo organismo humano, mas que oferecem ação protetora quando presentes na dieta em quantidades significativas (TIAN et al., 2016).

É importante frisar que em nosso país, uma grande quantidade de resíduos de biomassa de plantas é produzida anualmente como subprodutos das indústrias agroalimentares; e esses resíduos são fontes atraentes de antioxidantes naturais, em virtude da elevada concentração de compostos fenólicos presentes em cascas, peles (endocarpo) e sementes, o que suporta a utilização destes como uma fonte de antioxidantes naturais, especialmente pelas propriedades fisiológicas que possuem (BALASUNDRAN et al., 2006; COSTA et al., 2013). Porém, o Brasil ainda possui um potencial agrícola subaproveitado e uma diversidade de cultivares e de espécies de frutas, legumes e verduras pouco investigados e que potencialmente, a partir da inclusão alimentar desses produtos na alimentação humana, seria possível reduzir o desperdício e os fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT (KE et al., 2013; LEÃO et al., 2016; JIANGA, XIONGA., 2016).

Assim, a utilização integral e de forma sustentável dos subprodutos da indústria alimentícia, poderá contribuir para a redução da oferta de alimentos industrializados com antioxidantes sintéticos e ampliação do uso de antioxidantes naturais (ZHANG et al., 2016). No entanto, é necessária formação de parcerias para sustentabilidade e a efetividade das ações, além de uma integração de esforços entre políticas públicas, instituições públicas, privadas e organizações intersetoriais, com abrangência em setores da ciência e tecnologia e nos setores de produção e locais de acesso e distribuição do alimento para consumo.

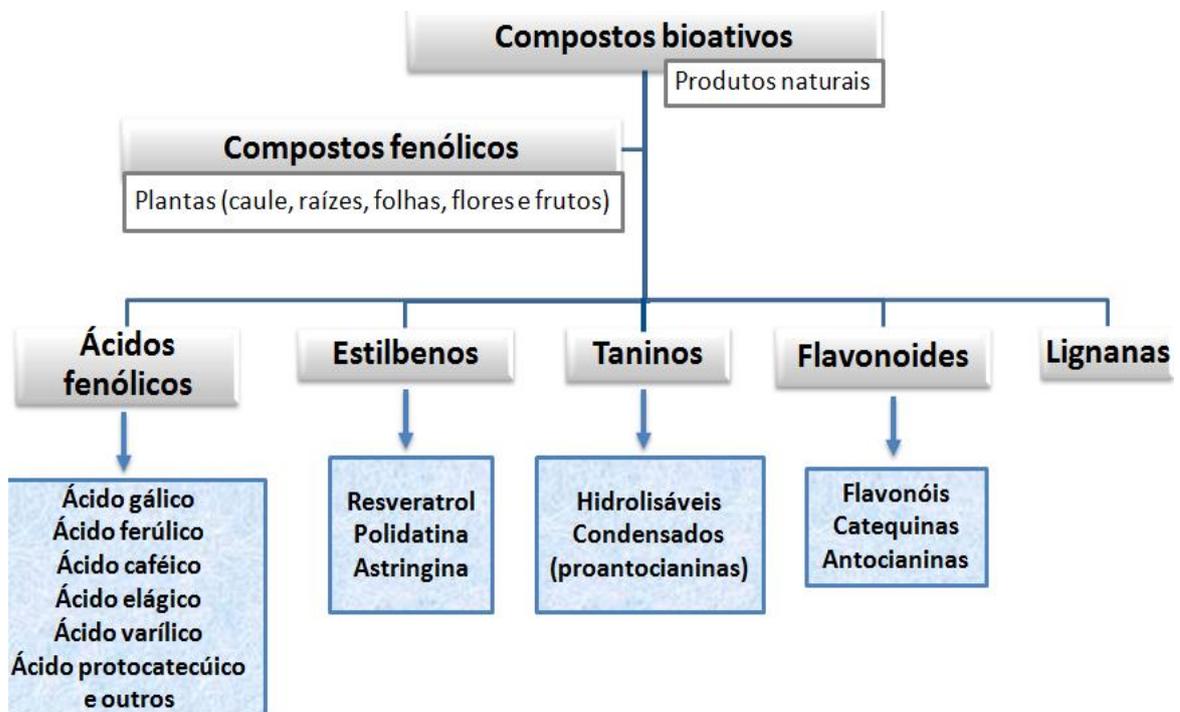
3.4.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos/polifenóis são uma classe de compostos bioativos amplamente distribuídos na natureza, representando um numeroso grupo de moléculas bioativas encontrados em alimentos de origem vegetal. Essas substâncias exercem função de fotoproteção, defesa contra microrganismos e insetos, e assim como são responsáveis pela pigmentação e pelas características sensoriais dos alimentos (MANACH et al., 2004; MURKOVIC, 2016), apresentam capacidade antioxidante, antibacteriana, antiinflamatória, além de atuarem favoravelmente no sistema imune (CANDRAWINATA et al., 2013; SIQUEIRA et al., 2014; CERIELLO et al., 2016).

É por isso que estudos sobre polifenóis têm aumentado exponencialmente ao longo das últimas duas décadas (LANDETE, 2012; SIQUEIRA et al., 2014; CERIELLO et al., 2016; TIAN et al., 2016), principalmente devido à associação entre o consumo destas substâncias e os numerosos benefícios à saúde. Essa relação atrai a atenção de pesquisadores, assim como de indústrias farmacêuticas e alimentícias, que ampliam os esforços para desenvolver novos produtos ricos em um ou mais desses compostos bioativos, conhecidos como funcionais (BRASIL, 2016).

A classificação dos polifenóis ocorre conforme número de anéis de fenol e maneira pela qual esses anéis ligam-se uns aos outros. São classificados em ácidos fenólicos, flavonoides (flavonois, antocianinas e catequinas), lignanas, taninos hidrolisáveis e condensados (proantocinidinas) e estilbenos (resveratrol) (**Figura 3**). Estes compostos possuem importantes efeitos farmacológicos, devido à capacidade antioxidante ou pró-oxidante (KATAJA–TUOMOLA et al., 2010; MOHAMED et al., 2014; DJENANE et al., 2016, MURKOVIC, 2016), porém, a estrutura química dos fenólicos é crucial para a ação de seus efeitos biológicos, pois a atividade antioxidante depende do número e da posição de grupos hidroxila em relação ao grupo carboxilo funcional (BALASUNDRAN et al., 2006; ABOURASHED, 2013; KE et al., 2013; WEIGLA et al., 2016).

Figura 3 - Compostos bioativos encontrados em produtos de origem vegetal.



Fonte: Autoria própria.

Para quantificação dos compostos fenólicos em produtos de origem vegetal são utilizadas várias técnicas, como os métodos calorimétricos e a cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa (LC-CG). Outro aspecto relevante é que o conteúdo de compostos fenólicos em produtos de origem vegetal varia com a espécie, variedade, parte avaliada, condições fisiológicas, solo, clima e práticas agrícolas (BOYER, LIU, 2004; PINCEMAIL et al., 2011; CARBONE et al., 2011; CANDRAWINATA et al., 2013). Além disso, um dos principais temas a respeito dos efeitos benéficos dos polifenóis é a sua biodisponibilidade e destino metabólico.

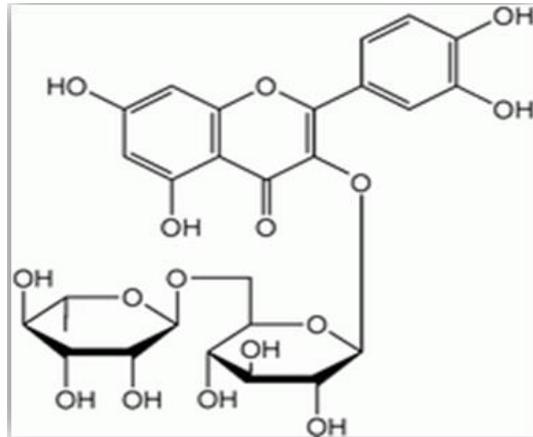
Nessa tese foi possível realizar uma investigação sobre a bioacessibilidade de compostos fenólicos de matrizes sólidas, análise muito importante, uma vez que apenas os compostos livres da matriz do alimento e/ou absorvidos no intestino delgado ficam biodisponíveis e em condição de serem utilizados em funções fisiológicas do corpo (MURKOVIC., 2016; JIANGA, XIONGA, 2016). Por este motivo, esta pesquisa pretende fornecer subsídios a respeito de bioprodutos com ação antioxidante e potencialmente bioacessíveis, por meio de testes pré-clínicos e simulação *in vitro*, e de maneira aprofundada, contribuir para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos e aplicação biotecnológica de produtos antes subutilizados. Assim, é primordial relatar sobre a importância dos demais antioxidantes naturais em P&D, assim como compreender conceitos e importância de bioacessibilidade e biodisponibilidade desses nutrientes bioativos.

3.4.2 Flavonoides

O cientista húngaro Albert Szent-Györgyi isolou no ano de 1930, uma nova substância química proveniente de laranjas e esta descoberta garantiu a ele, um prêmio Nobel. Inicialmente, essa substância ficou conhecida como vitamina P, e mais tarde foi verificado que de fato se tratava de um flavonoide, a rutina (**Figura 4**) (GHIASI et al., 2010).

Atualmente, é conhecido que dentre a classe dos fenóis, existe uma subclasse que representa o grupo mais importante e diversificado, os flavonoides, compostos polifenólicos biossintetizados, responsáveis pela pigmentação das plantas, pela função de capturar radicais livres, ligar-se a íons metálicos e atuar como agente bloqueador e supressor no organismo humano, tendo como principal característica a prevenção contra DCV, neoplasias e doenças neurodegenerativas (SRDIĆ-RAJIĆ; KONIĆ RISTIĆ, 2016).

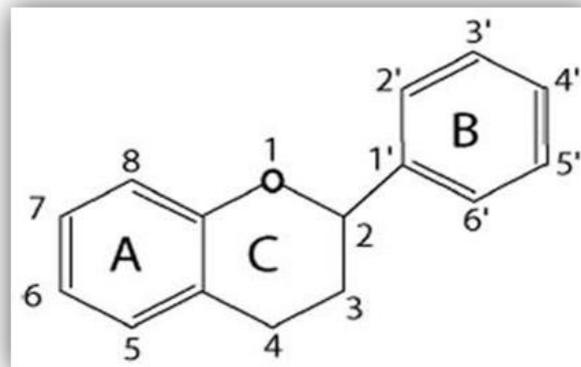
Figura 4 - Estrutura química da rutina, primeiro flavonoide identificado em 1930.



Fonte: Adaptado de GHIASI et al., 2010

Os flavonoides apresentam uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos (denominados anel A e B) unidos por um anel heterocíclico que contém um átomo de oxigênio (anel C) (**Figura 5**). Neste grupo dos flavonoides existe ainda outra subdivisão onde se encontram: as isoflavonas, flavonas, flavononas, antocianinas, flavonols e flavonóis, com outras subdivisões a partir destas (GHIASI et al., 2010; PAREDES-LOPEZ et al., 2010).

Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: Adaptado de GHIASI et al., 2010

Desde a primeira descoberta, os flavonoides são destaque em pesquisas científicas, em virtude da quantidade de ações biológicas e terapêuticas demonstradas tanto em condições experimentais como em seres humanos (HOLLMAN et al., 2011; BOUAYED, 2011; MURKOVIC, 2016). Atualmente, muitos flavonoides são agentes quimiopreventivos, pela sua capacidade de induzir a apoptose das células tumorais, inibir a proliferação celular

e impedir a invasão de angiogênese e tumores (HOLLMAN et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2014).

À classe dos flavonoides têm sido atribuídas diversas atividades biológicas, como atividade antioxidante e anti-inflamatória, tendo nestes casos forte relação estrutura-atividade (COUTINHO et al., 2009). A relação entre estrutura química das moléculas presentes em extratos de produtos naturais e a atividade antioxidante apresentada deve ser considerada, pois a atividade antioxidante pode ter uma relação com a concentração das substâncias fenólicas e/ou uma relação qualitativa relacionada à estrutura química de derivados fenólicos, onde o número de hidroxilas livres presentes nessas moléculas é uma característica importante para doar H e potencializar tal atividade (OLIVEIRA et al., 2013; MURKOVIC, 2016). Foi encontrado alguns flavonoides em extrato da polpa de *M. flexuosa* (buriti) incluindo a (+)-catequina, (-)-epicatequina e luteolina, como as mais abundantes (BATAGLION et al., 2014). Nas folhas da *M. flexuosa* pode-se caracterizar 6 diferentes flavonoides com potencial antioxidante: tricina-7-O-rutinosideo, isoschaftosideo, nicotiflorina, rutina, orientina e isoorientina (OLIVEIRA et al., 2013).

3.4.3 Carotenoides

Os carotenoides constituem um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais, pela larga distribuição, diversidade estrutural e inúmeras funções biológicas. São responsáveis pelas cores laranja, amarela e vermelha das frutas, hortaliças, flores, algas, bactérias, fungos, leveduras e animais (MANACH et al., 2004). O buriti apresenta elevado conteúdo de carotenoides com uma variação no teor desses compostos entre regiões, relacionada às condições climáticas como diferenças de temperaturas, umidade e densidade da vegetação (ROSSO, MERCADANTE, 2007)

Os resultados na determinação de carotenoides totais por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) demonstram que o buriti é uma excelente fonte desse composto (44600 µg/100g), destes 70% são de β-caroteno, 12% de α-caroteno e 1,6% de luteína, estando acima dos teores normalmente encontrados em cenoura, uma fonte muito conhecida e aceita pelos consumidores, tais dados justificam a utilização do fruto de buriti no combate à hipovitaminose A (LIMA, 2009; AQUINO et al., 2015). Outros autores caracterizaram por HPLC carotenoides como: *cis*-γ-caroteno; *trans*-γ-caroteno; *cis*-δ-caroteno; α-caroteno; todo-*trans*-β-caroteno; 9-*cis*-β-caroteno (CÂNDIDO et al., 2015; SANTOS, ALVES, ROCA, 2015).

3.5 Bioacessibilidade e biodisponibilidade

A bioacessibilidade é definida como a quantidade de cada composto ingerido que fica disponível para absorção no intestino após digestão. Entretanto, o termo biodisponibilidade é muito utilizado numa visão mais ampla contemplando a quantidade disponível no local de ação, já envolvendo a fração assimilada pelas células (COZZOLINO, 2007; PALAFOX-CARLOS et al., 2011; GIÃO et al., 2011).

Muitas técnicas têm sido propostas para a quantificação da biodisponibilidade dos compostos veiculados pela alimentação. Os métodos mais confiáveis para estudos de biodisponibilidade consistem em medidas de absorção *in vivo* em seres humanos utilizando técnicas de marcação (WHO, 2011). Os ensaios *in vivo* ou de intervenção em humanos são, contudo, demorados, caros e complexos, além de produzirem resultados variáveis (TOAIARI et al., 2005; TAKO et al., 2009, 2011; SUÁREZ et al., 2011; TAKO et al., 2013).

Atualmente são os métodos *in vitro* que estão amplamente utilizados, uma vez que são mais rápidos e não possuem as restrições éticas dos métodos *in vivo* (HOLLMAN et al., 2011; BOUAYED et al., 2011; LIMA et al., 2014). Estes métodos *in vitro* consistem em simular os processos de digestão e absorção, quando se trata de biodisponibilidade, ou apenas simular o processo de digestão, quando se deseja avaliar a bioacessibilidade. A resposta medida será a concentração de um nutriente em algum tipo de extrato final, permitindo desta forma estudar as mudanças que ocorrem nos componentes da dieta durante a digestão gástrica e intestinal, e alguns dos fatores que afetam a sua disponibilidade (PARADA, AGUILERA, 2007; BOUAYED et al., 2011; BRIONES-LABARCA et al., 2011).

A determinação da bioacessibilidade dos compostos bioativos constitui um passo importante para a verificação da manutenção das propriedades bioativas verificadas *in vitro* para a realidade *in vivo*. Com efeito, os compostos bioacessíveis presentes num determinado alimento podem diferir quantitativa e qualitativamente dos extraídos com métodos químicos. E assim, os compostos bioativos bioacessíveis não são necessariamente aqueles que se encontram presentes em maior concentração nos alimentos (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; LIMA et al., 2014).

Estudos identificaram que os compostos fenólicos com a maior atividade antioxidante a pH ácido não são necessariamente aqueles com a atividade antioxidante mais elevada, a pH neutro ou ligeiramente alcalino (TOAIARI et al., 2005; BOUAYED et al., 2011). Estudos têm realçado a fraca biodisponibilidade de vários grupos de compostos fenólicos refletida pela sua baixa concentração plasmática. Com efeito, mesmo quando ingeridos em quantidades relevantes na dieta, as concentrações plasmáticas dos antioxidantes, após

ingestão normal, raramente ultrapassam os nanomolares (PALAFOX-CARLOS et al., 2011). Pois, a biodisponibilidade destes CBAs depende de uma variedade de fatores fisiológicos, assim, para avaliar o significado biológico dos CBAs sobre a saúde humana é necessário conhecer não só os níveis de ingestão, mas também a quantidade biodisponível e bioacessível (LIMA et al., 2014). Somente os CBAs solubilizados a partir da matriz do alimento e que não são destruídos durante a digestão gastrointestinal são realmente bioacessíveis e, por conseguinte, potencialmente biodisponíveis (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; COSTA et al., 2013).

Durante a digestão gastrointestinal de CBAs, como os polifenóis, eles podem interagir com outros componentes alimentares e serem ainda mais degradados (antocianinas no intestino delgado), ou podem ser metabolizados, por exemplo, por hidrólise. Essas mudanças estruturais podem afetar tanto a sua posterior absorção como a bioatividade das substâncias (BOUAYED et al., 2011; MURKOVIC, 2016). Além disso, mais efeitos indiretos da dieta em vários parâmetros da fisiologia do intestino como pH, fermentação intestinal, excreção biliar e tempo de trânsito podem influenciar na absorção desses compostos. As enzimas transportadoras envolvidas na absorção e metabolismo dos polifenóis também podem ser induzidas ou inibidas pela presença de alguns micronutrientes ou xenobióticos (MANACH et al., 2004).

Avaliados em conjunto, esses fatores explicam as grandes variações inter e intraindividuais relativas à biodisponibilidade de CBAs, que podem variar de 0% a 100% a partir da dose que foi ingerida. Assim, entende-se que bioacessibilidade constitui um pré-requisito para a biodisponibilidade, definida como a quantidade da substância que é potencialmente absorvível (TAKO et al., 2009; CILLA et al., 2011). Dependendo dos fatores citados anteriormente, a pouca bioacessibilidade limitará a biodisponibilidade. Por exemplo, os minerais devem estar presentes no lúmen intestinal na forma solúvel para serem absorvidos. A formação de sais insolúveis, como quelatos com ácido fítico e oxálico, entre outros, reduz sua solubilidade e, portanto, sua biodisponibilidade (MANACH et al., 2004). Dessa forma, a atribuição de atividade antioxidante biológica, detectada *in vitro*, a compostos isolados e identificados de um extrato não é fácil, pois vários fatores devem ser avaliados (HAN et al., 2007; BASTOS, ROGERO, ARÊAS, 2009; GIÃO et al., 2011).

Considerando o exposto sobre o tema, é importante destacar que embora o alimento não seja postulado como medicamento, acredita-se que o uso continuado de alimentos ricos em CBAs aliado a hábitos de vida saudáveis possui ação positiva na redução do estresse oxidativo e sobre o risco de desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis. Entretanto, apesar do grande avanço no conhecimento relativo à relação entre dieta e

redução do risco de DCNT (SOLÀ et al., 2010; CATTANI, BARUQUI-RAMOS, 2016), ainda não se conhecem exatamente os mecanismos pelos quais os CBAs atuam nesse sentido. São necessárias pesquisas que identifiquem marcadores para essas substâncias e técnicas analíticas que permitam a sua quantificação.

REFERÊNCIAS

- ABOURASHED E. A. Bioavailability of Plant-Derived Antioxidants. **Antioxidants**, v. 2, p. 309 - 325, 2013.
- AQUINO, J. S.; PESSOA, D. C. N. D.; OLIVEIRA, C. E. V.; CAVALHEIRO, J. M. O.; STAMFORD, T. L. M. Making cookies with buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.): an alternative source of dietary vitamin A in school meals. **Revista Nutrição**, v. 25, p. 765 - 774, 2012.
- AQUINO, J.; SOARES, J.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T.; MASCARENHAS, R.; TAVARES, R.; STAMFORD, T. Effects of dietary Brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054, 2015.
- AGIL, R.; PATTERSON, Z.R.; MACKAY, H.; ABIZAID, A.; HOSSEINIAN, F. Triticale Bran Alkylresorcinols Enhance Resistance to Oxidative Stress in Mice Fed a High-Fat Diet. **Foods**, v. 5, p.1-16, 2016.
- BARBOSA, R. L.; LIMA, A. D; JÚNIOR, M. M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f. - *Areaceae*): estimativas de produtividade de polpa e óleo vegetal em uma área de savana em Roraima. **Amazônia: INPA, CPEC**; 24p, 2009.
- BASTOS, D. H. M; ROGERO M. M; ARÊAS J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, p. 646-656, 2009.
- BECKER, F. S., DAMIANI, C., MACHADO, A. A. M., BORGES, P. R. S., VILAS, E. V.B. Incorporation of Buriti Endocarp Flour in Gluten-free Whole Cookies as Potential Source of Dietary Fiber. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, p. 344 - 350, 2014.
- BOYER, J., LIU, R.H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 1475-2891, 2004.
- BOUAYED, J., HOFFMANN, L., BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, v.128, p. 14–21, 2011.
- BRIONES-LABARCA, V., VENEGAS-CUBILLOS, G., ORTIZ-PORTILLA, S., CHACANA-OJEDA, M., MAUREIRA, H. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, v.128, p. 520–529, 2011.
- CATTANI, I. M.; BARUQUE-RAMOS, J. Brazilian Buriti Palm Fiber (*Mauritia flexuosa* Mart.). In: FANGUEIRO, R. e RANA, S. (Ed.). **Natural Fibres: Advances in Science and**

Technology Towards Industrial Applications: From Science to Market. Dordrecht: Springer Netherlands, 2016. p.89-98.

CARRAZZA, L. & FIGUEIREDO, I. Cerrado que te quero vivo! - Produtos e meios de vida sustentáveis apoiados pelo Programa de Pequenos Projetos Ecosociais (PPP-ECOS). **Instituto Sociedade População e Natureza**, Brasília – DF, 2010.

CANUDO, G. A. B, XAVIER, A. A. O, NEVES, L. C., BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 1196-1205, 2010.

CARBONE, K., GIANNINI, B., PICCHI, V., LO SCALZO, R., CECCHINI, F. Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 493–500, 2011.

CANDRAWINATA, V.I., GOLDING, J.B., ROACH, P.D, STATHOPOULOS, C.E. From Apple to Juice—The Fate of Polyphenolic Compounds. **Food Reviews International**, v. 29, p. 276–293, 2013.

CELESTINO, S.M.C. Princípio de secagem de alimentos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **Embrapa Cerrados**, 1ª Ed., pág. 12,2010.

CERIELLO, A.; TESTA, R.; GENOVESE, S. Clinical implications of oxidative stress and potential role of natural antioxidants in diabetic vascular complications. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, p. 285-292, 2016.

COZZOLINO, S. Nutracêuticos: o que Significa? **Revista ABESO** – Associação Brasileira para o estudo da Obesidade, v. 55, p.1-7, 2012.

COSTA, A. B.; DE OLIVEIRA, A. M. C.; SILVA, A.M. O.; MANCINI-FILHO J.; DE LIMA A. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do Noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 345-354, 2013.

CYMERYS, M.; FERNANDES, N. M. P.; RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). SHANLEY, P.; MEDINA, G. FRUTIFERAS E PLANTAS ÚTEIS DA AMAZONIA. **Belém: CIFOR**, Imazon, 2005. p. 181-187.

DAMIANI, C.; SILVA, F. A.; RODOVALHO, E. C.; BECKER, F. S.; ASQUIERI, E. R.; OLIVEIRA, R. A.; LAGE, M. E. Utilization of waste vegetable for the production of seasoned cassava flour. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, p. 657-662, 2011.

DE OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 689-702, 2009.

DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; LEWIS C. E. A New Phylogenetic Classification of the Palm Family, Arecaceae. **Kew Bulletin**, v. 60, p. 559-569, 2005.

DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M.M.;LEWIS C. E. Genera Palmarum. The Evolution and Classification of the Palms. 2.ed. **Royal Botanic Gardens**, Kew, UK, 2008. 744p.

DJENANE, D.; MARTINEZ, L.; SANCHEZ-ESCALANTE, A.; BELTRAN, J.A.; RONCALES, P. Antioxidant effect of carnosine and carnitine in fresh beef steaks Activities. **Food Chemistry**, v. 199, pp. 330–338, 2016.

EFRAIM P.; ALVES A.B.; JARDIM D.C.P. Polyphenols in cocoa and derivatives: factors of variation and health effects. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, p. 181-201, 2011.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de alimentos**. 2ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 652p.

FERNANDES, M. S. Exportação de frutas e derivados: a importância da logística e do transporte. São Paulo: **IBRAF**, 2007.

GIESE, J. Fats, Oils, and Fat Replacers. **Food Technology Especial Report**, v. 50, p. 78-83, 1996.

GIÃO, M.S., GOMES, S., MADUREIRA, A., R., FARIA, A., PESTANA, D., CALHAU, C., PINTADO, M.E., AZEVEDO, I., MALCATA, X. Effect of *in vitro* digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of *Agrimonia eupatoria*, *Rubus idaeus*, *Salvia sp.* and *Satureja montana*. **Food Chemistry**, v. 131, p. 761–767, 2011.

GHIASI, N.; TAHERI, S.; TAFAZZOLI, M. Dynamic stereochemistry of rutin (vitamin P) in solution: theoretical approaches and experimental validation. **Carbohydrate Research**, v. 345, pp. 1760 – 1766, 2010.

HAN, X., SHEN, T., LOU, H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, p. 950-988, 2007.

HADA, A.R.; ALFAIA, S.S.; NELSON, B.W. Retirada de folhas de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) e sua relação com a produção de novas folhas. **Norte Ciência**, vol. 2, p. 23-32. Manaus, AM: 2011.

HORN, C. M.; GILMORE, M. P., ENDRESS, B. A. Ecological and socio-economic factors influencing aguaje (*Mauritia flexuosa*) resource management in two indigenous communities in the Peruvian Amazon. **Forest Ecology and Management**, v. 267, p.93-103, 2012.

HOLLMAN, P. C., CASSIDY, A., COMTE, B., HEINONEN, M., RICHELLE, M., RICHLING, E., SERAFINI M., SCALBERT A., SIES H., VIDRY, S. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. **Journal of Nutrition**, v. 141, p. 989S–1009S, 2011.

IPEA – **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada** (Nilo Luiz Saccaro Júnior). Desafios da Bioprospecção no Brasil. ISSN: 1415-4765, v.1, p. 7 – 29, 2011.

IVANČEVIĆ, S.; MITROVIĆ, D.; BRKIĆ, M. Specificities of fruit freeze drying and product prices. **Economics of Agriculture**, v. 59, p. 461-471, 2012.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares, 2008 - 2009**. Despesas, Rendimentos e Condições de Vida. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

JIANGA, J.; XIONGA, L. Y. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**. Available online 9 April, 2016.

KATAJA-TUOMOLA, M.K.; KONTTO, J.P.; MANNISTO, S.; ALBANES, D.; VIRTAMO, J.R. Effect of alphanatocopherol and beta-carotene supplementation on macrovascular complications and total mortality from diabetes: results of the ATBC Study. **Annals of Medicine**, v. 42, p. 178-186, 2010.

KE, Y.; XU, X.; WU, S.; HUANG, J.; GENG, Y.; MISRA, H.; LI, Y. Protective effects of extracts from *Fructus rhodomyrti* against oxidative DNA damage *in vitro* and *in vivo*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1 – 8, 2013.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, p. 241-248, 2009.

LACERDA, A. M.; MODOLO, A. K.; MATIAS, R. C.; PISTORI, H.; YANO, M.; ROEL, A.R.; PORTO, K. R. A. *Screening* of plants with potential phototoxic. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, p. 352-355, 2011.

LIDON, F., SILVESTRE, M.M. **Princípios de Alimentação e Nutrição Humana**. 1ª Edição, Escolar Editora, Lisboa, Portugal, 2010.

LEÃO, L. K. R.; HERCULANO, A. M.; MAXIMINO, C.; COSTA, A. B.; GOUVEIA, A.; BATISTA, E. O.; ROCHA, F. F.; CRESPO-LOPEZ, M. E.; BORGES, R.; OLIVEIRA, K. *Mauritia flexuosa* L. protects against deficits in memory acquisition and oxidative stress in rat hippocampus induced by methylmercury exposure. **Nutritional Neuroscience**, p. 1-8, 2016.

LIMA, A. C. S.; SOARES, D. J.; SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, R.W.; SOUSA, P. H. M.; MENEZES, E. A. *In vitro* bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 161, p.142-147, 2014.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira. *In*: Lewinsohn, T. M. (Org.). **Avaliação do Estado do Conhecimento da Biodiversidade Brasileira**. Brasília: MMA, v. 1, p. 21-109, 2006.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Plantarum**, Nova Odessa, SP, 1992. 352p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. Palmeiras Brasileiras e Exóticas cultivadas. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa, SP, 2004. 416 p.

MANHÃES, L. R. T. **Caracterização da polpa de buriti (*Mauritia flexuosa*, Mart.): um potente alimento funcional**. 2007. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, [2007].

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727–747, 2004.

MARIANI M., OLIVEIRA V.R., FACCIN R., RIOS A.O. Elaboração e avaliação de biscoitos sem glúten a partir de farelo de arroz e farinhas de arroz e de soja. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 18, p. 70-78, 2015.

MARTINS, R. C.; SANTELLI, P.; FILGUEIRAS, T. S. Buriti. *In*: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Eds). Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil. **EMBRAPA Informação e Tecnológica**, Brasília, DF, p. 109-126, 2010.

MARTINS, R. C.; FILGUEIRAS, T. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Ethnobotany of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in a Maroon Community in Central Brazil. **Economic Botany**, v. 20, p. 1–8, 2011.

MATTHAN N.R.; JALBERT, S.M.; AUSMAN, L.M.; KUVINJ.T.; KARAS R.H.; LICHTENSTEIN, A.H. Effect of soy protein from differently processed products on cardiovascular disease risk factors and vascular endothelial function in hypercholesterolemic subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 960-966, 2007.

MILANEZ J.T.; NEVES, L.C.; SILVA, P.M.C.; BASTOS, V.J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R.C.; ROBERTO, S.R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 202, p. 77-82, 2016.

MORAES, L.R.B.; GUTJAHR, E. Química de oleaginosas: valorização da biodiversidade amazônica. **Agência de Cooperação Técnica Alemã (GTZ)**, Brasília, DF. 2009. 83p.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. São Paulo:Varela, 1998. 150 p.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.V. **Introdução a Ciência de Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 2002. 255 p.

MOREIRA, T. B.; ROCHA, E. M. F. F.; AFONSO, M. R. A.; COSTA, J. M. C. Comportamento das isotermas de adsorção do pó da polpa de manga liofilizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (RBEAA)**, v.17, p.1093–1098, 2013.

MURKOVIC, M. Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. *In*: (Ed.). **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, 2016. p. 346-351.

NASCIMENTO, A.R.T.; SANTOS, A.A.; MARTINS, R.C.; DIAS, T.A.B. Comunidade de palmeiras no território indígena Kraho, Tocantins, Brasil: biodiversidade e aspectos etnobotânicos. **Interciência**, v. 34, p. 182-188, 2009.

NASCIMENTO, A. R. T. Riqueza e etnobotânica de palmeiras no território indígena Kraho, Tocantins, Brasil. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 40, p. 209-220, 2010.

NOVION, H. P. I., BAPTISTA, F. M. O certificado de procedência legal no Brasil: estado da arte da implementação da legislação. Documentos de investigación: iniciativa para la prevención de la biopiratería. **Instituto Socioambiental**, v. 2, p.1-15, 2006.

NOWAK, C.; SALIHOVIC, S.; GANNA, A.; BRANDMAIER, S.; TUKIAINEN, T.; BROECK LING, C. D.; MAGNUSSON, P. K.; PRENNI, J.E.; WANG-SATTLER, R.; PETERS, A.; STRAUCH, K.; MEITINGER, T.; GIEDRAITIS, V.; ÅRNLÖV, J.; BERNE, C.; GIEGER, C.; RIPATTI, S.; LIND, L.; PEDERSEN, N.L.; SUNDSTRÖM, J.; INGELSSON, E.; FALL, T. Effect of Insulin Resistance on Monounsaturated Fatty Acid Levels: A Multi-cohort Non-targeted Metabolomics and Mendelian Randomization Study. **PLoS Genetics**, v.12, p. e1006379, 2016.

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J.V.; VICHA, R.; MLCEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 12871-12890, 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO/OECD). Agricultura Brasileira: Perspectivas e Desafios (capítulo 2). In: Perspectivas Agrícolas no Brasil: desafios da agricultura brasileira 2015-2024. 21ª ed., 2015. 54 pag. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en

OLIVEIRA, C. A. O.; ANSEMI, A. A.; KOLLING, D. F.; FINGER, M. I. F.; DALLA CORTE, V. F.; DILL, M. D. Farinha de arroz e derivados como alternativas para a cadeia produtiva do arroz. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 16, p. 291-297, 2014.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnología de alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v. 1, 2005. 294p.

OETTERER, M **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. 664p.

PARADA, J., AGUILERA, J. M. Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. **Journal of Food Science**, v. 72, p.1750-3841, 2007.

PAREDES-LOPEZ, O.; CERVANTES-CEJA, M.K.; VIGNAPEREZ, M.; HERNANDEZ-PEREZ, T. Berries: improving human health and healthy aging and promoting quality life – a review. **Plant Foods and Human Nutrition**, v. 65, p. 299-308, 2010.

PALAFIX-CARLOS, H., AYALA-ZAVALA, J. F., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 1750-3841, 2011.

PEREIRA, N. S. **Estudo comparativo entre ps/b-caroteno e ps/ácido oleico com ps/óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) e preparação e caracterização dos materiais ps/óleo de açai (*Euterpe oleracea Mart*)**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em química)- Universidade de Brasília - UnB, Instituto de Química, Laboratório de Pesquisa em Polímeros, [2008].

PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J-O.; DOMMES, J. Cultivars, culture conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and

antioxidant capacity of strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Journal of Food Science**, v.77, p. 205-210, 2012.

RANI, V.E.; PAULRAJ, S. Impact of dietary intervention with a functional food supplement to combat anemia - the blood iron metabolic disorder among the coffee plantation laborers. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 3, p. 21-36, 2013.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; NASS, L.L.; HENZ, G.P.; HEINRICH, A.G.; RIBEIRO, C.S.C.; EUCLIDES FILHO, K.; BOITEUX, L.S.; RITSCHER, P.; FERRAZ, R.; QUECINI, V. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Brasília, DF, v.1, 156 p, 2015.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds.) Cerrado: ambiente e flora. **EMBRAPA-CPAC**, Planaltina, DF, p. 89-166, 1998.

RODRIGUEZ-SAONA, L., FRY, F., MCLAUGHLIN, M.; CALVEY, E. Rapid analysis of sugars in fruit juices by FT-NIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 336, p. 63-74, 2001.

SAMPAIO, M. B., SCHMIDT, I. B., FIGUEIREDO, I. B. Harvesting Effects and Population Ecology of the Buriti Palm (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) in the Jalapão Region, Central Brazil. **Economic Botany**, v. 62, p. 171-181, 2008.

SAMPAIO, M. B. & CARRAZZA L.R. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (*Mauritia flexuosa*)**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), Brasília, 76 pag., 2012a.

SAMPAIO, M.B. Ecologia, manejo e conservação do buriti (*Mauritia flexuosa*; Arecaceae) nos brejos do Brasil Central. **Tese de doutorado**, UNICAMP. Campinas, 2012b, 161p.

SERNA-COCK L., VARGAS-MUNÓZ D.P., APONTE A.A. Structural, physical, functional and nutraceutical changes of freeze-dried fruit. **African Journal of Biotechnology**, v.14, p. 442-450, 2015.

SILVA, M. B. de; RAMOS, A. M. Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. **Revista Ceres**, Viosa, v. 56, p. 551-554, 2009.

SIQUEIRA, E.P.; ANDRADE, A.A.; de SOUZA-FAGUNDES, E.M.; RAMOS, J.P.; KOHLHOFF, M.; NUNES, Y.R.; COTA, B.B. *In vitro* antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.8, p. 1408-17, 2014.

SILVA, M.F.; LOPES, P.S.; SILVA, C.F.; YOSHIDA, C.M.P. Active packaging material based on buriti oil – *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, p. 1-9, 2016.

SOUZA, T. A. C.; SOARES JÚNIOR, M.; CAMPOS, M. R. H.; SOUZA, T. S. C.; DIAS, T.; FIORDA, F. A. Bolos sem glúten a base de arroz quebrado e casca de mandioca. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, p. 717-728, 2013.

SOLÀ, R., BRUCKERT, E.; VALLS, R.M.; NAREJOS, S.; LUQUE, X.; CASTRO-CABEZAS, M.; DOMÉNECH, G.; TORRES, F.; HERAS, M.; FARRÉS, X.; VAQUER, J.V.; MARTÍNEZ,

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

J.M.; ALMARAZ M.C.; ANGUERAA. Soluble fibre (*Plantago ovata* husk) reduces plasma low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, triglycerides, insulin, oxidised LDL and systolic blood pressure in hypercholesterolaemic patients: A randomised trial. **Atherosclerosis**, v. 211, p. 630-7, 2010.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B.; BASSOL, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 537-543, 2013.

STORTI, E. F. Biologia Floral de *Mauritia flexuosa* Lin. Fil, na região de Manaus, AM, Brasil, **Acta Amazonica**, v. 23, p. 371-381, 1993.

SRDIĆ-RAJIĆ, T.; KONIĆ RISTIĆ, A. Antioxidants: Role on Health and Prevention A2 - Caballero, Benjamin. In: FINGLAS, P. M. e TOLDRÁ, F. (Ed.). **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, 2016. p. 227-233.

SHOFIAN, N.; HAMID, A.; OSMAN, A.; SAARI, N.; ANWAN, F; PAK DEK, M.; HAIRUDDIN, M. Effect of freeze-Drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. **International Journal of Molecular Science**, v.12, p. 4678-4692, 2011.

SUÁREZ, M.; VALLS, R. M.; ROMERO, M.P.; MACIÀ, A.; FERNÁNDEZ, S.; GIRALT, M.; SOLÀ, R.; MOTILVA, M. J. Bioavailability of phenols from a phenol-enriched olive oil. **British Journal of Nutrition**, v. 106, p.1691-701, 2011.

TAGLIAZUCCHI, D., VERZELLONI, E., BERTOLINI, D., CONTE, A. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v.120, p. 599–60, 2010.

TAKO, E.; LAPARRA, J.M.; GLAHN, R.P.; WELCH, R.M.; LEI, X.G.; BEEBE, S.; MILLER, D.D. Biofortified black beans in a maize and bean diet provide more bioavailable iron to piglets than standard black beans. **Journal of Nutrition**, v. 139, p. 305- 309, 2009.

TAKO, E.; BLAIR, M.W.; GLAHN, R.P. Biofortified red mottled beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in a maize and bean diet provide more bioavailable iron than standard red mottled beans: Studies in poultry (*Gallus gallus*) and an *in vitro* digestion/Caco-2 model. **Nutrition Journal**, v. 10, p.113, 2011.

TAKO, E.; BEEBE, S.; REED, S.; BOY, E.; GLAHN, R. Biofortified black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in a maize and bean diet provide more bioavailable iron to chickens (*Gallus gallus*) than standard black beans. **The Faseb Journal**, v. 27, p. 859 – 869, 2013.

TOAIARI, D.A.S.; YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; SOUZA, R.F.S. Biodisponibilidade de ferro do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e da farinha de mandioca fortificada com ferro em ratos. **Brazilian Journal of Nutrition**, v.18, p. 291- 299, 2005.

VALERO, A.; CARRASCO, E.; GARCIA-GIMENO, R. M. Principles and Methodologies for the Determination of Shelf-Life in Foods. **Trends In Vital Food And Control Engineering**, Rijeka, p.1-41, abr. 2012.

VERONEZI, C. M.; JORGE, N. Aproveitamento de sementes de abóbora (*Cucurbita* sp) como fonte alimentar. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, p.113-124, 2012.

ZEISEL, S.H. Regulation of nutraceuticals. **Science** 285:1853-55,1999.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospeção de frutos regionais

CAPÍTULO 1

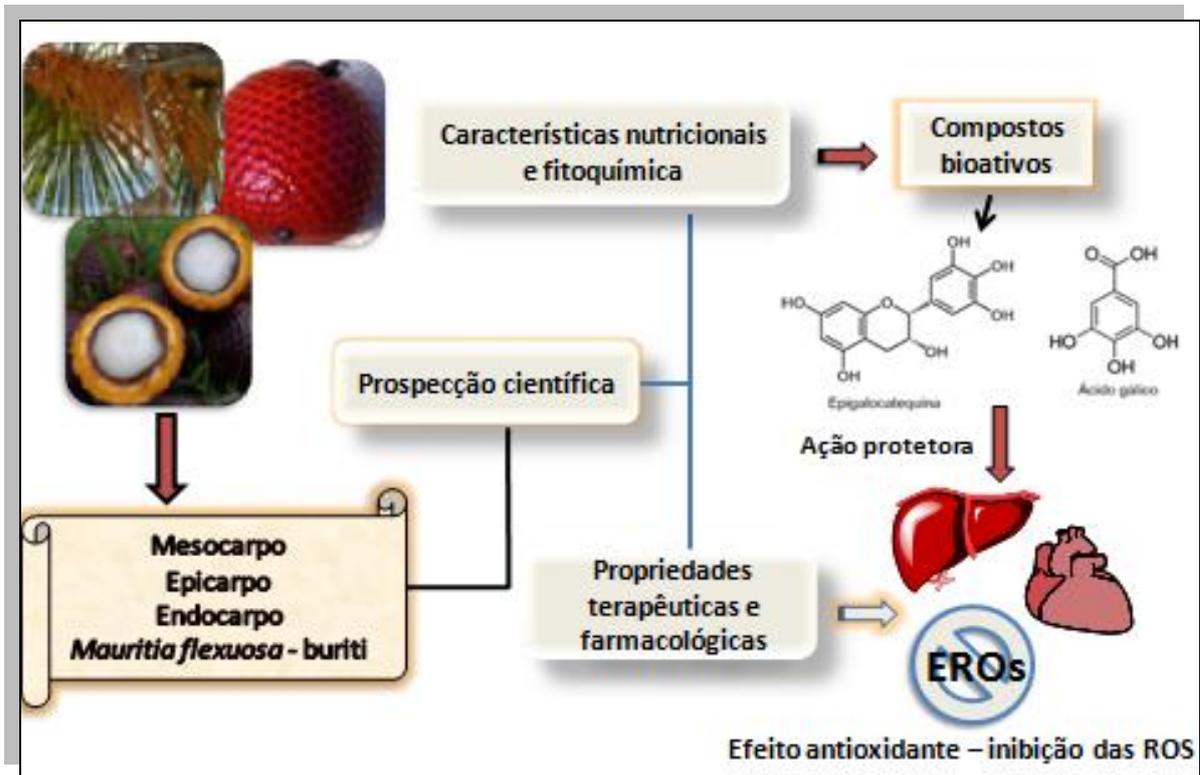
Perfil fitoquímico, propriedades nutricionais e atividades farmacológicas da *Mauritia flexuosa*



Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*

Artigo publicado B2: Journal of Food Science

RESUMO GRÁFICO



Perfil fitoquímico, propriedades nutricionais e atividades farmacológicas da *Mauritia flexuosa*

Resumo

Mauritia flexuosa L. (Arecaceae) é uma palmeira que produz um fruto conhecido popularmente como “buriti” e pertence à categoria de alimento funcional. Este trabalho revisou o perfil fitoquímico, as atividades nutricionais e farmacológicas da *M. flexuosa*. Para tanto, foi realizada uma pesquisa bibliográfica de 1999 até o ano de 2016 em bases de dados científicas *ScienceDirect*, *Scopus*, *PubMed*, *Web of Science* e *Google scholar*. Esses artigos foram selecionados seguindo critérios de inclusão: resumo e texto completo mostrando atividades biológicas ou caracterização físico-química de *M. flexuosa* ou seus frutos. Os dados em duplicidade foram excluídos. Os termos “buriti” e o nome científico da espécie “*Mauritia flexuosa*” foram utilizados como descritores para a pesquisa científica. Após o delineamento da pesquisa e exclusão de artigos em duplicidade e não relacionados ao objetivo da pesquisa, foram selecionados 68 artigos para o desenvolvimento dessa revisão sistemática, além de outros artigos necessários para a discussão científica. Como resultados, observou-se que os principais compostos bioativos encontrados no fruto foram carotenoides, tocoferóis, ácido ascórbico, compostos fenólicos, fibras, fitosteróis e ácidos graxos mono e polinsaturados. Esses compostos foram relacionados principalmente com atividade antioxidante, hipolipemiante, fotoprotetora, antiagregante, antitrombótica, anti-inflamatória, hipoglicemiante, antimicrobiana e antitumoral. Além disso, alguns compostos presentes no fruto buriti e suas propriedades foram testados *in vitro* e *in vivo* e mostrou excelentes possibilidades de aplicações em biotecnologia, especialmente para extração de fibras, polissacarídeos, pigmentos antioxidantes e óleo. Portanto, a fruta buriti apresenta grande relevância para o desenvolvimento de novos produtos na área de alimentos e indústria química, entretanto, esta fruta ainda é subexplorada e tem necessidade de expandir sua cadeia produtiva para incentivar o seu consumo e utilização.

Palavras-chave: Compostos bioativos, Cerrado brasileiro, buriti, potencial funcional

Phytochemistry profile and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*: a review with perspective for new biotechnology purposes

Joilane Alves Pereira Freire^{a,*}, Karla Bruna Nogueira Torres Barros^b, Layana Karine Farias Lima^c, Julyanna Maciel Martins^d, Yan de Carvalho Araújo^e, George Laylson da Silva Oliveira^f, Rivelilson Mendes de Freitas (*in memorian*)^g, Paulo Michel Pinheiro Ferreira^{h,*}

^a Department of Nutrition, Federal University of Piauí, Picos, Piauí, Brazil.

^b Department of Pharmacy, Catholic Faculty Rainha do Sertão, Quixadá, Ceará, Brazil.

^c Department of Pharmacy, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

^d Department of Pharmacy, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

^e Department of Pharmacy, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

^f Department of Biochemistry and Pharmacology, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

^g Department of Biochemistry and Pharmacology, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

^h Department of Biophysics and Physiology, Laboratory of Experimental Cancerology, Federal University of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil.

Short title: Phytochemistry and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*

*Corresponding author.

E-mail address: joilane@hotmail.com (J. A. Pereira-Freire) and pmpf@ufpi.edu.br (P. M. P. Ferreira)

Phone/Fax: +55.89.34224200 / +55.86.32155871

Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*

ABSTRACT

Mauritia flexuosa L. (Arecaceae) is a palm tree that produces a fruit known popularly as "buriti" and belongs to the category of functional food. This work reviewed the phytochemical profile, nutritional and pharmacological activities of *M. flexuosa*. To do so, a bibliographical research was carried out from 1999 to 2016 in scientific databases ScienceDirect, Scopus, PubMed, Web of Science and Google scholar. These articles were selected following inclusion criteria: abstract and full text showing biological activities or physical-chemical characterization of *M. flexuosa* or its fruits. Duplicate data were excluded. The terms "buriti" and the scientific name of the species "*Mauritia flexuosa*" were used as descriptors for scientific research. After the delineation of the research and exclusion of articles in duplicate and not related to the objective of the research, 68 articles were selected for the development of this systematic review, besides other articles necessary for the scientific discussion. As results, it was observed that the main bioactive compounds found in the fruit were carotenoids, tocopherols, ascorbic acid, phenolic compounds, fibers, phytosterols and mono and polyunsaturated fatty acids. These compounds were mainly related to antioxidant, lipid-lowering, photoprotective, anti-aggregating, antithrombotic, anti-inflammatory, hypoglycemic, antimicrobial and antitumor activities. In addition, some compounds present in the fruit buriti and its properties were tested in vitro and in vivo and showed excellent possibilities of applications in biotechnology, especially for extraction of fibers, polysaccharides, antioxidant pigments and oil. Therefore, the fruit buriti has great relevance for the development of new products in the area of food and chemical industry, however, this fruit is still underexploited and needs to expand its production chain to encourage its consumption and use.

Key words: Bioactive compounds, Brazilian Cerrado, buriti, functional potential

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um grande número de espécies de frutas nativas e exóticas subexploradas com potencial interesse para a agroindústria e uma possível fonte de renda para comunidades locais. O consumo de frutas tropicais está aumentando nos mercados nacionais e internacionais devido ao crescente reconhecimento de seus efeitos nutricionais e benéficos para a saúde (RUFINO et al., 2010). Vários estudos epidemiológicos mostraram que o hábito de consumir frutas está associado a um menor risco de doenças crônicas (LIM et al., 2013; LIU, 2013; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ et al., 2011). No entanto, atualmente poucas informações são disponíveis sobre o valor nutricional e sobre compostos bioativos de frutas tropicais, especialmente de espécies mais exóticas, na verdade, frequentemente são observados subexploração em populações e culturas locais.

A *Mauritia flexuosa* é típica do Cerrado brasileiro conhecida como "buriti", mas é também encontrada em toda a América do Sul, pertencente à família *Arecaceae* e subfamília *Lepidocarycideae*. No Brasil, é mais comum nos estados do Pará, Amazonas, Maranhão, Piauí, Bahia, Ceará e Tocantins (CANUDO et al., 2010). O fruto de *M. flexuosa* é usado para vários propósitos, com possibilidade de uso para a polpa até as sementes. Porém, sua polpa atualmente é a mais explorada e apresenta múltiplas propriedades nutricionais que podem ser favoráveis à saúde (IGBAL 2014; SIQUEIRA et al., 2014). É fonte de ferro, cálcio e fibras, portanto, é considerado um alimento funcional (MANHÃES, SABAA-SRUR, 2011) com potencial biotecnológico.

A polpa também é utilizada para a produção de sorvetes, doces, cremes, geléias, vitaminas, compotas, vinhos e extração de óleos, por possuir um sabor característico e muito peculiar (CANDIDO et al., 2015; MANHÃES et al., 2015). O óleo tem altos níveis de ácidos graxos monoinsaturados, carotenoides e vitamina E (tocoferóis), além de apresentar alta capacidade antioxidante (AQUINO et al., 2012a, 2012b e 2015; MEDEIROS et al., 2015; SPERANZA et al., 2016). Em modelos animais o óleo de buriti mostrou efeitos biológicos específicos, como melhora do perfil lipídico e aumento da deposição de retinol em ratos (AQUINO et al., 2012a; 2012b e 2015; MEDEIROS et al., 2015).

O fruto do buriti é inserido na categoria de alimentos funcionais por causa de sua composição nutricional, especialmente na polpa e no óleo extraído dessa parte do fruto, onde há um alto teor de compostos bioativos já identificados que atuam na prevenção do estresse oxidativo e de doenças crônicas, com atividade antioxidante, anti-inflamatória e antiagregantes plaquetários (MANHÃES, SABAA-SRUR, 2011; CORDEIRO et al., 2015). Além disso, a presença destes antioxidantes naturais, melhora a proteção solar e poderá ser

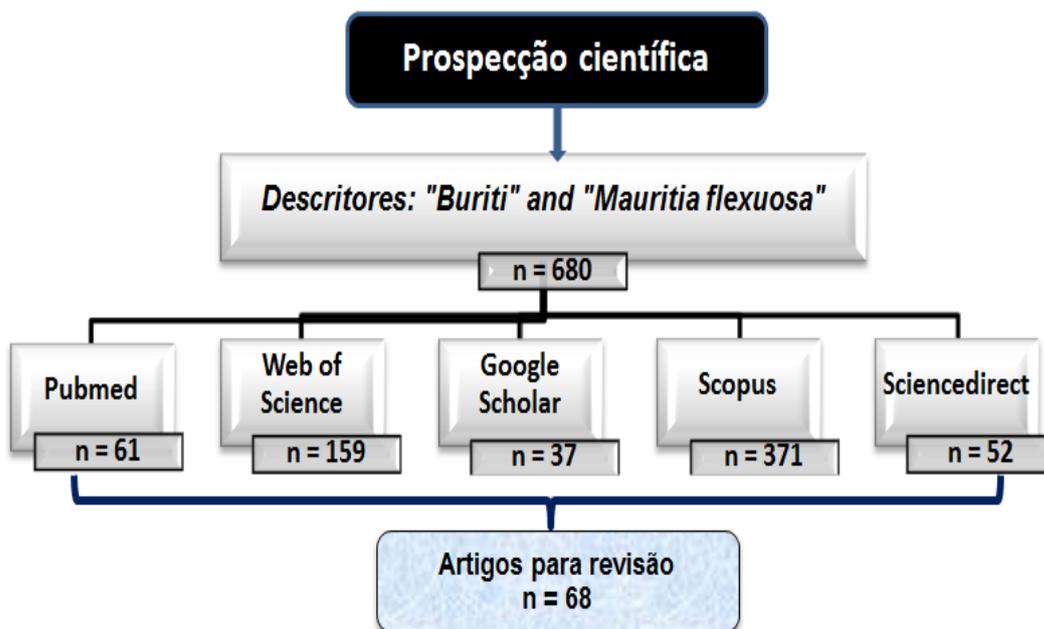
adicionado como antioxidantes naturais em produtos cosméticos, capilares e farmacêuticos (CANUDO et al., 2010; FERREIRA et al., 2011a; FERREIRA et al., 2016a).

Nesta perspectiva, é essencial ampliar a pesquisa e o conhecimento sobre novos alimentos funcionais, já que são considerados promotores de saúde por estarem associados à diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças, como obesidade, doenças cardiovasculares, hipertensão, osteoporose, diabetes e câncer. Assim, alimentos funcionais e plantas medicinais têm propriedades importantes no contexto da saúde pública (GONZÁLEZ-VALLINA et al., 2012; EDDOUKS et al., 2012). Desse modo, o objetivo desse estudo foi desenvolver uma revisão sistemática e científica sobre a *Mauritia flexuosa*, detalhando sua composição nutricional, perfil fitoquímico e principais atividades farmacológicas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para uma revisão sistemática completa e confiável foram utilizados recursos primários e secundários, incluindo artigos originais e de revisão, livros e documentos governamentais escritos em inglês, português ou espanhol (SIMÕES et al., 2015). Foi realizada uma pesquisa bibliográfica de 1999 até o ano de 2016 em bases de dados científicas *ScienceDirect*, *Scopus*, *PubMed*, *Web of Science* e *Google scholar* (Figura 1).

Figura 1 - Representação gráfica da prospecção científica nas bases de dados pesquisadas.



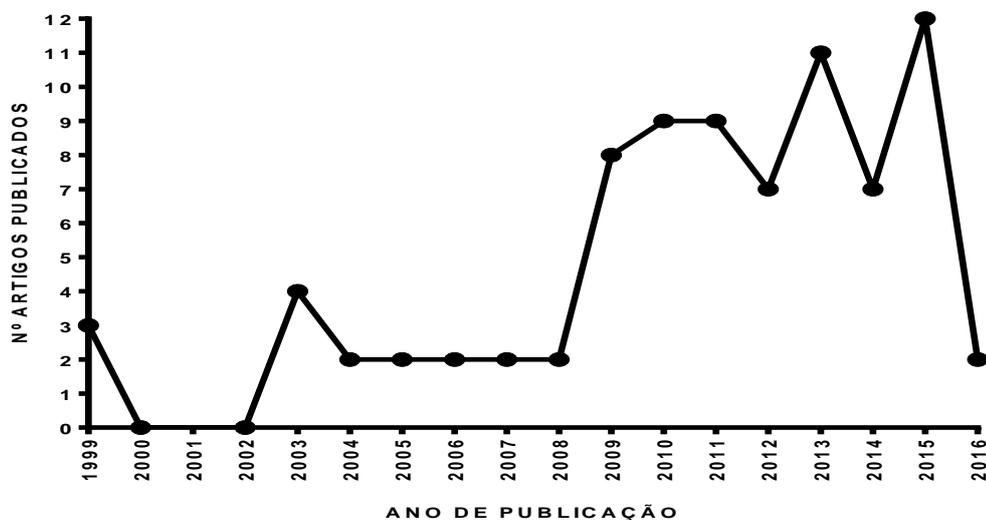
Posteriormente, os artigos foram selecionados seguindo critérios de inclusão: resumo e texto completo mostrando atividades biológicas ou caracterização físico-química de *M. flexuosa* ou seus frutos. Os dados em duplicidade foram excluídos. Os termos "buriti" e o nome científico da espécie "*Mauritia flexuosa*" foram utilizados como descritores para a pesquisa científica. Os documentos utilizados foram apenas aqueles que mencionaram tais descritores no resumo ou no título dos artigos publicados até 2016. Após essa etapa, os artigos em duplicidade e não relacionados com qualquer aplicação de buriti em atividade biológica, terapêutica ou nutricional foram removidos. O período de coleta dos dados foram nos meses de maio a agosto de 2016, e estes foram analisados utilizando o software *GraphPad Prism* (versão 6.03).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados da busca de artigos científicos

Nas bases científicas pesquisadas foram encontrados, 52, 371, 61, 159, 37 artigos, respectivamente, para os descritores "buriti" e "*Mauritia flexuosa*" no título e/ou *abstract*, totalizando 680 artigos (**Figura 1**). Após a exclusão de artigos em duplicidade e não relacionados ao objetivo da pesquisa, foram selecionados 68 artigos para o desenvolvimento dessa revisão sistemática, além de outros artigos necessários para a discussão científica. Em seguida os artigos foram selecionados e ordenados cronologicamente, dispostos em forma de gráfico como demonstrado na **Figura 2**.

Figura 2- Distribuição por ano (1999-2016) dos artigos selecionados.



Ao analisar a **Figura 2**, é possível observar a distribuição de artigos selecionados por ano de publicação, e ao comparar com anos anteriores, é percebido que a partir de 2009 a 2015 houve um aumento nas publicações relacionadas ao tema proposto. Além disso, o aumento no número de publicações nas últimas décadas pode está relacionado ao interesse pelas atividades biológicas e farmacológicas da *M. flexuosa* em anos recentes.

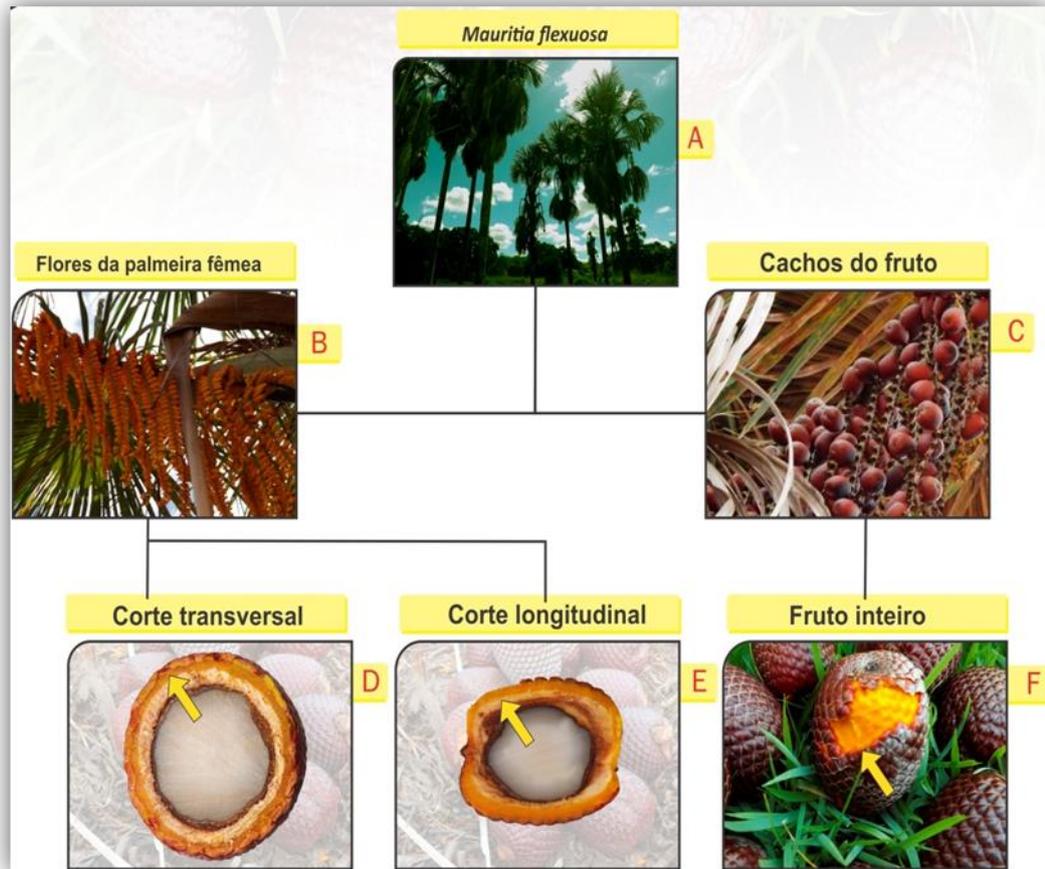
3.1.1 Caracterização botânica, importância econômica e usos gerais da *M. flexuosa*

Mauritia flexuosa é uma palmeira que pode atingir uma altura de até 40 m e possui caule com 13 a 55 cm de diâmetro (**Figura 3A**). Conforme a região, a mesma planta recebe diferentes nomes populares, assim, o buriti, é também conhecido como “miriti”, “muriti”, “palmeira-do-brejo”, “morighe”, “carangucha” e “aguaje”. Existem palmeiras de buritis machos e fêmeas (**Figura 3B e C**). Enquanto os machos produzem cachos que só dão flores, as fêmeas produzem os cachos com flores que se tornarão frutos. As flores do buriti são alaranjadas tanto nos cachos dos machos, quanto das fêmeas. Em determinados períodos do ano, é possível ver ao mesmo tempo em uma fêmea os cachos de frutos quase maduros e os cachos ainda em flor, cujos frutos estarão maduros somente no ano seguinte (MORAES, GUTJAHR, 2009).

Essa palmeira é amplamente distribuída em vários tipos de florestas de áreas alagadas e, por ser comum ao longo dos igarapés, representam uma rede imensa de alimento nas florestas tropicais e savanas da Amazônia. É importante destacar que a palmeira em geral tem frutos durante a estação das secas, portanto, garante estoque de alimento e promove a segurança alimentar destes locais em momentos de escassez. Também são encontradas em florestas fechadas ou abertas, em solos mal drenados e fracamente arenosos, em áreas de baixa altitude (<1000 m), sendo considerada a palmeira mais abundante do Brasil (BARBOSA et al., 2009).

Vale ressaltar que a demanda por frutos de buriti no Brasil ainda é pequena. Mesmo em regiões com presença marcante de buritizais (**Figura 3A**), o consumo ainda é concentrado regionalmente, mesmo sendo este fruto de grande potencial econômico (GILMORE et al., 2013).

Figura 3 - Imagens da palmeira, cachos e fruto de buriti.



(A) Palmeiras de buriti (*Mauritia flexuosa*) em região típica, Piauí, Brasil. Latitude: 5° 54'S; Longitude: 42° 38'W (B) flores da palmeira fêmea, que produz cachos de frutos. (C) Cacho do fruto (D) Corte transversal e identificação do mesocarpo (E) Corte longitudinal e identificação endocarpo. (F) Fruto inteiro e identificação do epicarpo. **Fonte:** arquivos pessoais.

É percebido que em algumas regiões de cultivo, o principal mercado para subprodutos do buritizeiro é a venda do suco de buriti, feita com a polpa acrescida de água em proporções variadas (BARBOSA et al., 2009; MORAES, GUTJAHR, 2009). Em determinadas regiões, as famílias conseguem produzir e comercializar até 2.000 kg de massa de buriti, o que gera uma renda de aproximadamente R\$ 10.000 durante o período de uma safra, que dura de quatro a cinco meses. Esse valor econômico é relevante, considerando que a comercialização dos produtos de buriti está entre as principais fontes de renda para muitas famílias, junto com a produção de alimentos nas roças e a criação de gado (SAMPAIO et al., 2012; BARBOSA et al., 2009; FERREIRA et al., 2016b).

Contudo, o uso e exportação da polpa do fruto são prejudicados por dificuldades em logística e pelo fato do produto ser perecível. Uma alternativa para melhorar essa logística é a extração de óleo a partir da polpa, produto que é menos perecível e com maior valor agregado. A produção de óleo da polpa de buriti varia entre 330 litros/ha/ano a 384 litros/ha/ano (SAMPAIO, 2008; MORAES, GUTJAHR, 2009). Além disso, é relevante o rendimento anual resultante da venda do óleo extraído da polpa do fruto, já que em 2008, o litro do óleo vendido em Belém, no estado do Pará, custava R\$ 50,00, aproximadamente. No ano de 2017, 200mL de óleo de buriti em Picos, no estado Piauí, é comercializado no valor de R\$ 15,00. No entanto, para aumentar a produtividade seria necessário capital para construção de refinarias caseiras e capacitação de mão-de-obra (SAMPAIO, 2008). A aplicação do fruto na indústria cosmética, que tem cada vez mais interesse no óleo retirado da polpa, já que este é rico em compostos bioativos antioxidantes (CANUDO et al., 2010).

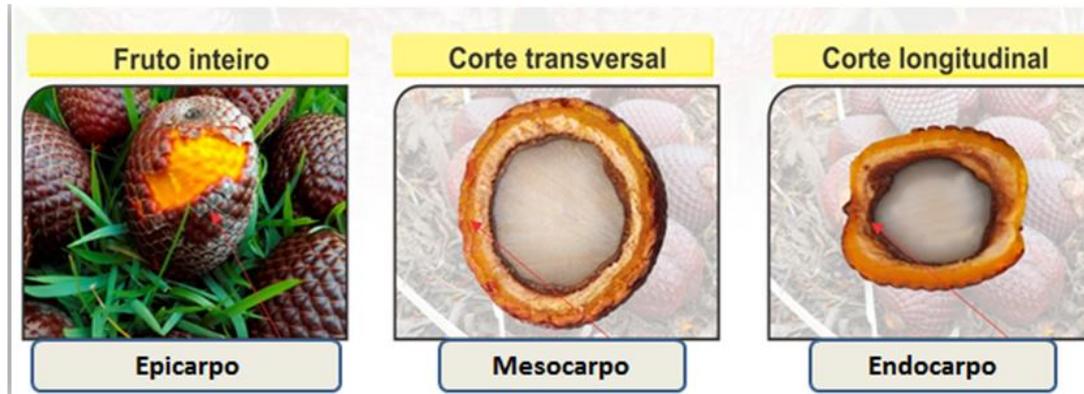
No Nordeste e Norte do Brasil, o processamento dos frutos de buriti, especialmente para a extração de óleo, gera uma grande produção anual de resíduos agrícolas, tais como cascas, endocarpo e sementes. Estas partes da fruta são subutilizadas, principalmente como alimento para animais ruminantes, entretanto, é importante explorar as características nutricionais desses subprodutos que têm potencial para uso e enriquecimento da alimentação humana e podem ter aplicabilidade em diversas áreas da biotecnologia sustentável.

3.2. Caracterização física e físico-química do fruto do buriti

3.2.1 Características físicas e rendimento

O conhecimento do valor nutricional do buriti, bem como das suas características físicas, além de informações quanto ao rendimento de todas as partes do fruto, subsidia o seu real aproveitamento tecnológico e nutricional. Portanto, as características físicas do fruto indicam que este possui uma forma globoso-alongada, com 4-7 cm de comprimento, 3 a 5 cm de diâmetro e peso que varia de 25 g a 40 g (SANTOS et al., 2011). Conforme **Figura 4**, é constituída de epicarpo ou pericarpo/casca formado de escamas rombóides de cor castanho-avermelhada e o mesocarpo ou polpa é de cor alaranjada, carnosa e oleosa, além disso, o endocarpo envolve a semente e é esponjoso, delgado, com a cor variando de branco a amarelado, com alto teor de celulose (SANTOS et al., 2011; BECKER et al., 2014).

Figura 4 - Ilustração do fruto inteiro e de corte transversal e longitudinal, com identificação do epicarpo, meso e endocarpo.



Fonte: arquivo pessoal

BARBOSA et al. (2009), encontraram peso médio dos frutos frescos de 51,24 g, e um diâmetro transversal de 3,3 - 4,3 cm e para o diâmetro longitudinal 3,5 - 5,6 cm. Enquanto que CARNEIRO et al. (2011), verificaram frutos pesando 33,66 g; 52,5 e 39,1 mm de diâmetros longitudinal e transversal, respectivamente. É imprescindível considerar que as características físicas do fruto variam muito e essas variações morfométricas podem ser explicadas por fatores exógenos e endógenos, como a umidade do solo, período e luminosidade, além de impactos por predadores ou ainda por fatores hormonais e genéticos (MILANEZ et al., 2016).

Morangos cultivados em condições climáticas onde a incidência de luz solar e os níveis pluviométricos são quase constantes apresentaram uma menor quantidade de compostos fenólicos quando comparados àqueles nos quais essas condições climáticas eram heterogêneas (TULIPANI et al., 2011; PINCEMAIL et al., 2012). Há uma ampla possibilidade de que tal efeito se repita nos frutos do buriti de diferentes regiões brasileiras, dado que os frutos provenientes do bioma Cerrado são expostos a uma maior incidência de luz solar além de ser uma região de clima mais seco (MORI et al., 2007).

Talvez, as condições climáticas também interfiram percentualmente na constituição de partes gerais do fruto, com valores médios de 22,1% a 25,1%, 11% a 24,2%, 21,0% e 32,6% a 63,9%, para casca, polpa, endocarpo e sementes, respectivamente (BARBOSA et al., 2009; CARNEIRO, CARNEIRO, 2011). O fruto do buriti pode ser classificado como climatérico e seu ponto de colheita é de até 210 dias após a ântese. Deve-se notar que este fruto é muito perecível, especialmente a polpa (MILANEZ et al., 2016).

3.2.2 Composição química centesimal do fruto

A polpa de buriti oferece um elevado valor nutricional, além de atrativos sensoriais como, cor, sabor e aroma peculiares e intensos, devendo ser mais explorada comercialmente a fim de ampliar o aproveitado integral do fruto.

Para a caracterização físico-química do buriti, ainda hoje, a literatura disponível sobre as espécies não leva em consideração as diferenças morfológicas e químicas entre as variedades, bem como os diversos graus de maturação e de umidade dos frutos, ou mesmo as diferenças nas metodologias analíticas, o que proporciona resultados discrepantes em relação aos valores de lipídeos, carboidratos e proteínas (**Tabela 1**), embora, lipídeos e carboidratos sejam os componentes principais da polpa (CARNEIRO, CARNEIRO, 2011; DARNET et al., 2011; MANHÃES, SABAA-SUR, 2011).

Tabela 1 – Composição centesimal da polpa de *Mauritia flexuosa* (g/100g).

Composição centesimal	Fonte		
	Darnet et al. (2011)	Manhães; Sabaa-Srur (2011)	Carneiro; Carneiro (2011)
Carboidrato	26,2	8,2	25,5
Proteína	3,7 ± 0,0	2,1 ± 0,2	1,3 ± 0,0
Lipídeos	19,0 ± 0,7	13,8 ± 0,7	18,2 ± 1,5
Umidade	-	62,9 ± 0,1	54,3 ± 0,1
Cinzas	0,6 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,0
Fibra dietética	22,8 ± 0,4	-	-
Energia total *(kcal)	1006,0	166,4	270,0

*Energia total.

3.2.3 Composição de minerais do fruto da *M. flexuosa*

A polpa de buriti apresenta minerais em quantidades consideráveis, o que é extremamente importante, pois muitos destes atuam como cofatores em várias reações metabólicas no organismo humano, com envolvimento destes em funções fisiológicas vitais (**Tabela 2**). Entre os macrominerais apresentados é destaque, o potássio, o cálcio, o magnésio e o sódio. Dentro do universo de microminerais encontrados na polpa de buriti foi observado o ferro, seguido por zinco e, posteriormente, pelo cobre (MANHÃES et al., 2011).

A presença de macro e micronutrientes que participam de processos metabólicos e atuam como cofatores de reações, servem para proporcionar destaque e agregar valor nutricional à polpa de frutos do buriti (VÁSQUEZ-OCMÍN et al., 2010). Dentre os oligoelementos, foram detectados também na polpa do fruto, o iodo, manganês, crômio e selênio (MANHÃES et al., 2011) (**Tabela 2**).

VÁSQUEZ-OCMÍN et al. (2010) realizaram a caracterização química e estabilidade oxidativa de óleos de três morfotipos diferentes de buriti (*M.flexuosa* L.) e encontraram também valores relevantes de concentrações de minerais no mesocarpo de buriti da região do Perú, com médias inferiores para cálcio, em relação ao estudo de Manhães et al. (2011).

Tabela 2 - Minerais na polpa da *Mauritia flexuosa* em relação às recomendações dietéticas para homens/mulheres entre 25 e 50 anos, respectivamente.

Minerais*	Média ± D.P (mg 100g ⁻¹ amostra)	Recomendações dietéticas**	% diário recomendado
Macrominerais			
Potássio (K)	218,0 ± 12,3	-	-
Cálcio (Ca)	80,5 ± 4,4	800/800 mg dia ⁻¹	10
Sódio (Na)	11,2 ± 0,5	-	-
Magnésio (Mg)	40,3 ± 1,9	350/280 mg dia ⁻¹	13
Microminerais			
Ferro (Fe)	1,8 ± 0,0	10/15 mg dia ⁻¹	10
Cobre (Cu)	0,1 ± 0,0	1,5 – 3,0 mg dia ⁻¹	100
Zinco (Zn)	0,6 ± 0,0	15/12 mg dia ⁻¹	5
Elementos traços			
Cromo (Cr)	0,1 ± 0,0	50-200 mg dia ⁻¹	100
Manganês (Mn)	1.8 ± 0.1	2-5 mg dia ⁻¹	100
Selênio (Se)	0.03 ± 0.0	70/55 mg dia ⁻¹	50
Iodo (I)	-	150/150 mg dia ⁻¹	100

* Manhães et al. (2011). **National Research Council (1989). S.D.= desvio padrão.

3.3 Perfil fitoquímico

Muitos compostos químicos foram isolados a partir da *Mauritia flexuosa* até o presente. Estes compostos foram enfatizados nessa revisão, especialmente aqueles componentes característicos do fruto, descrevendo as partes específicas do mesmo na **Tabela 3** e as estruturas químicas demonstradas nas **Figuras 5 a 8**.

3.3.1 Carotenoides e tocoferóis

A polpa de buriti apresenta teores elevados de carotenoides totais, com uma variação no teor desses compostos entre regiões que está relacionada à condições climáticas, como diferenças de temperaturas, umidade e densidade da vegetação (ROSSO, MERCADANTE, 2007). A determinação de carotenoides totais por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) demonstrou que o buriti é uma excelente fonte desse composto (44600 µg/100g), destes 70% são de β-caroteno (1), 12% de α-caroteno (2), e 1,6% de luteína (3) (**Figura 5**), estando acima dos teores normalmente encontrados em cenouras,

que é considerada a fonte de β -caroteno mais conhecida e aceita pelos consumidores, o que justifica a utilização de frutos de buriti, no combate à hipovitaminose A (LIMA et al., 2009). Outros autores caracterizaram por HPLC carotenóides como: *cis*- γ -caroteno (4); *trans*- γ -caroteno (5); *cis*- δ -caroteno (6); α -caroteno (7); *todo-trans*- β -caroteno (8); 9-*cis*- β -caroteno (9) (CÂNDIDO et al., 2015; SANTOS et al., 2015) (**Tabela 3**).

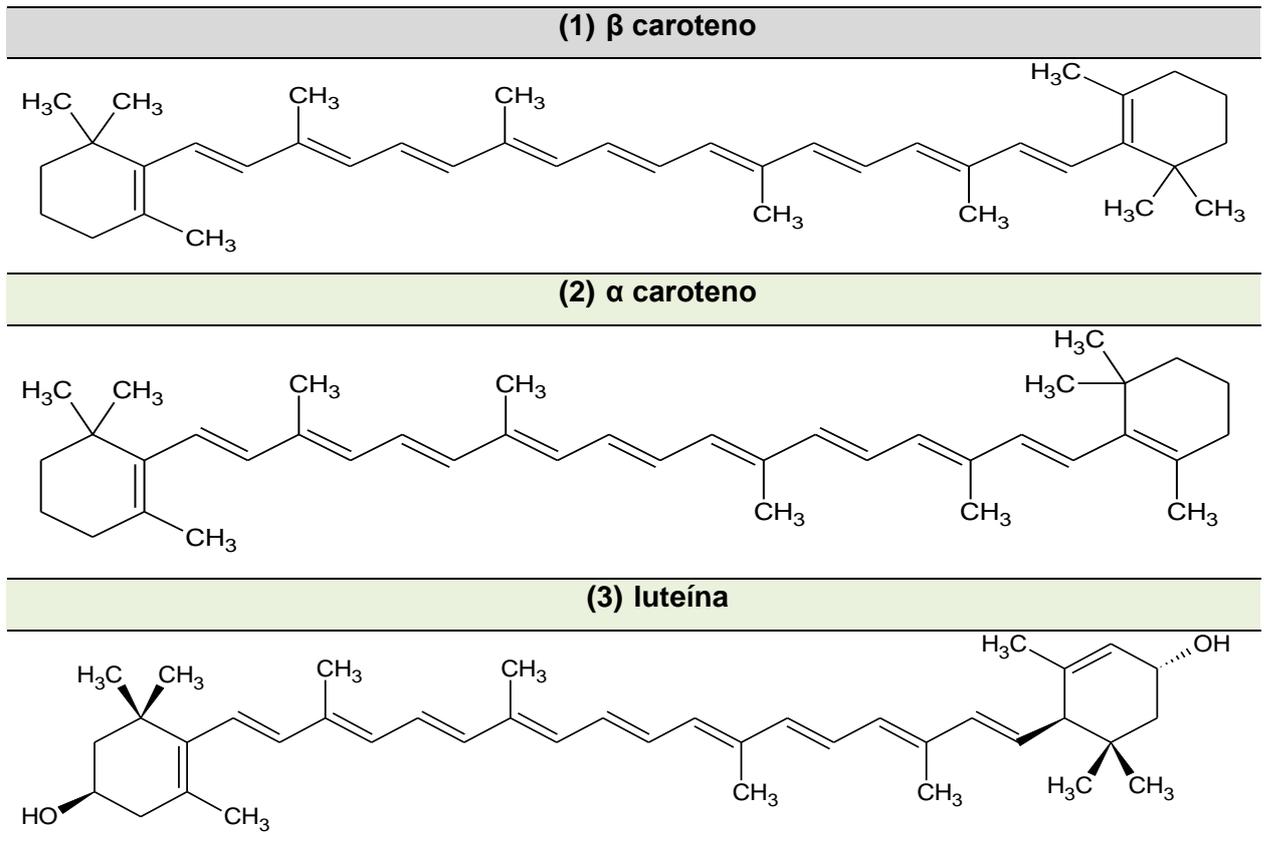
O conteúdo de tocoferóis em polpas de buriti é muito alto, com 1,169 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de matéria seca, dos quais 37,2%, 57,0% e 5,8% correspondem às frações α -tocoferol (11), β -tocoferol (12), δ -tocoferol (13) e γ -tocoferol (14), respectivamente (ZANATTA et al., 2010; DARNET et al., 2011) (**Figura 6, Tabela 3**). Estes tocoferóis atuam como antioxidantes naturais e devido ao seu papel como sequestrador de radicais livres, protegem o corpo de doenças crônicas não-transmissíveis, dentre elas câncer e doenças cardiovasculares.

Tabela 3 – Compostos bioativos encontrados na *Mauritia flexuosa*.

Compostos	Nº	Constituintes	Parte da planta e/ou fruto	Referência
Carotenoides				
	1	β -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015); Medeiros et al.(2015); Milanez et al. (2016)
	2	α -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015)
	3	Luteína		Cândido et al.(2015)
	4	<i>cis</i> - γ -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015)
	5	<i>trans</i> - γ -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015)
	6	<i>cis</i> - δ -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015)
	7	<i>cis</i> α -caroteno		Santos et al. (2015)
	8	<i>todo-trans</i> - β -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015)
	9	9- <i>cis</i> - β -caroteno	Polpa	Cândido et al.(2015); Santos et al. (2015)
Vitamina E				
	10	Vitamina E	Polpa	Rodrigues et al.(2010); Darnet et al (2011); Aquino et al.(2015)
Tocoferóis				
	11	α -tocoferol	Polpa	Manhães et al (2015); Darnet et al. (2011)
	12	β - tocoferol	Polpa	Manhães et al (2015); Rodrigues et al. (2010); Darnet et al.(2011)
	13	δ - tocoferol	Polpa	Manhães et al.(2015); Darnet et al. (2011)
	14	γ - tocoferol	Polpa	Rodrigues et al.(2010); Darnet et al.(2011)
Vitamina C				
	15	Ácido ascórbico	Polpa	Lima et al. (2009)
Compostos fenólicos				
	16	Ácido quínico	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	17	Ácido Cafeico	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	18	Ácido clorogênico		Bataglioni et al.(2014)
	19	Ácido ferúlico	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	20	P-Cumárico	Polpa	Bataglioni et al.(2014)

	21	Ácido protocatecuico	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
Flavonoides				
	22	(+) catequina	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	23	(-) epicatequina	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	24	Luteolina		Bataglioni et al.(2014)
	25	Apigenina	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	26	Miricetina	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	27	Canferol	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	28	Quercetina	Polpa	Bataglioni et al.(2014)
	29	tricina-7-O-rutinosideo	Folha	Oliveira et al.(2013)
	30	Isoschaftosideo	Folha	Oliveira et al.(2013)
	31	nicotiflorina	Folha	Oliveira et al.(2013)
	32	Rutina	Folha	Oliveira et al.(2013)
	33	Orientina	Folha	Oliveira et al.(2013)
	34	Isoorientina	Folha	Oliveira et al.(2013)
Ácidos graxos				
	35	Ácido oleico	Polpa	Darnet et al.(2011); Aquino et al.(2012a, 2012b); Medeiros et al.(2015); Speranza et al.(2016)
	36	Ácido palmítico	Polpa	Darnet et al.(2011); Speranza et al.(2016)
	37	Ácido linoleico	Polpa	Darnet et al.(2011); Aquino et al.(2012a, 2012b); Medeiros et al.(2015);Speranza et al.(2016)
	38	Ácido araquidônico	Polpa	Darnet et al.(2011)
	39	Ácido Palmitoleico	Polpa	Darnet et al.(2011); Medeiros et al.(2015)
	40	Ácido esteárico	Polpa	Darnet et al.(2011); Aquino et al.(2012a, 2012b) Medeiros et al.(2015)
	41	Ácido mirístico	Polpa	Aquino et al.(2012a, 2012b); Medeiros et al.(2015); Speranza et al.(2016)
	42	Ácido elaídico	Polpa	Aquino et al.(2012a, 2012b); Medeiros et al.(2015)
	43	Ácido linolênico	Polpa	Aquino et al.(2012a, 2012b); Aquino et al.(2015); Medeiros et al.(2015); Speranza et al.(2016)
	44	Ácido margárico	Polpa	Aquino et al.(2012a, 2012b); Medeiros et al.(2015)
Fitosteróis				
	45	Estigmasterol	Polpa	Bataglioni et al.(2015); Santos et al.(2013)
	46	β -sitosterol	Polpa	Bataglioni et al.(2015)
	47	campesterol	Polpa	Bataglioni et al.(2015)
	48	Estigmastano-3,5-dieno	Polpa	Bataglioni et al.(2015)

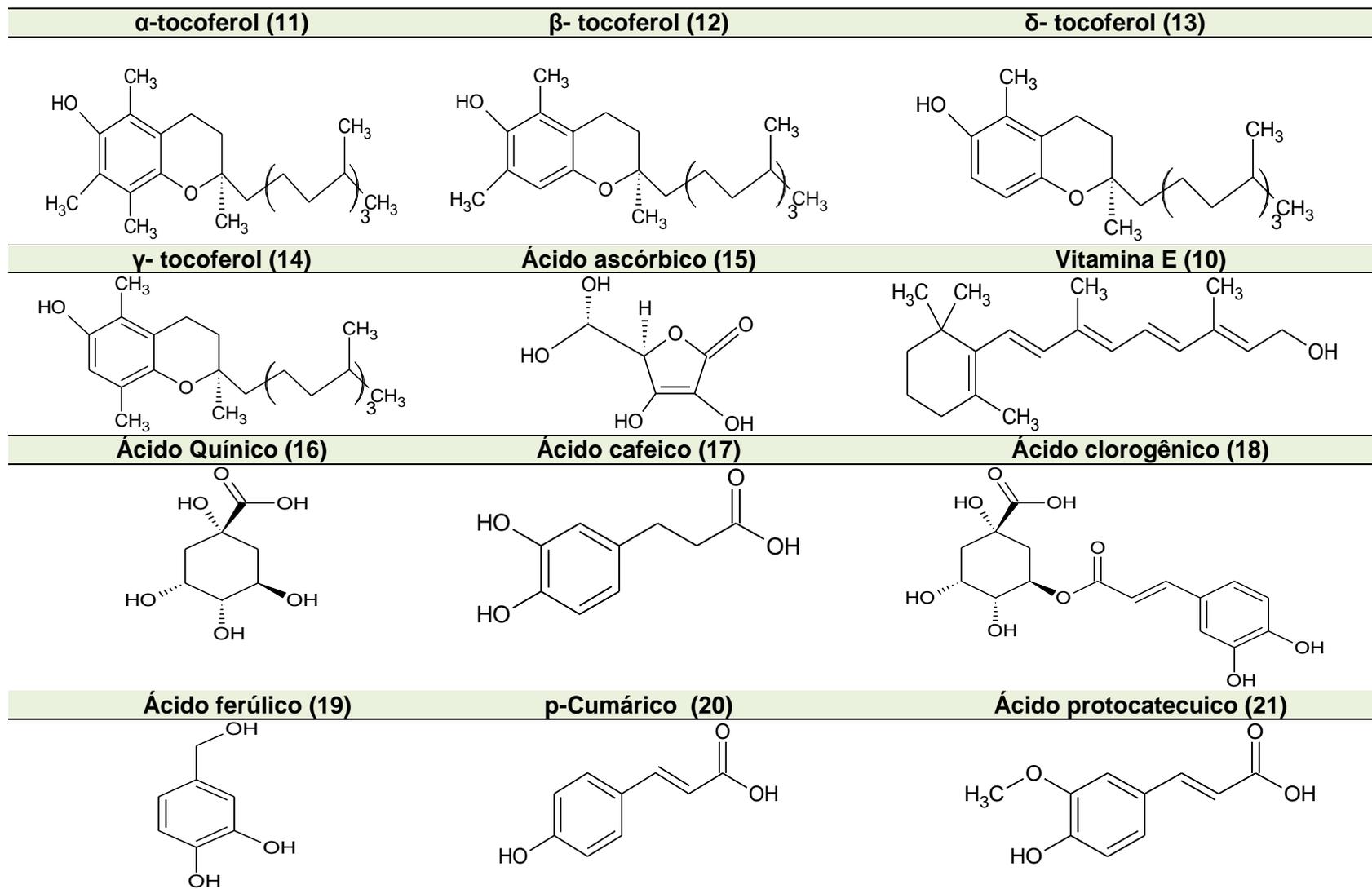
Fonte: autoria própria

Figura 5 - Estrutura química dos carotenoides em polpa de buriti.

3.3.2 Ácido ascórbico

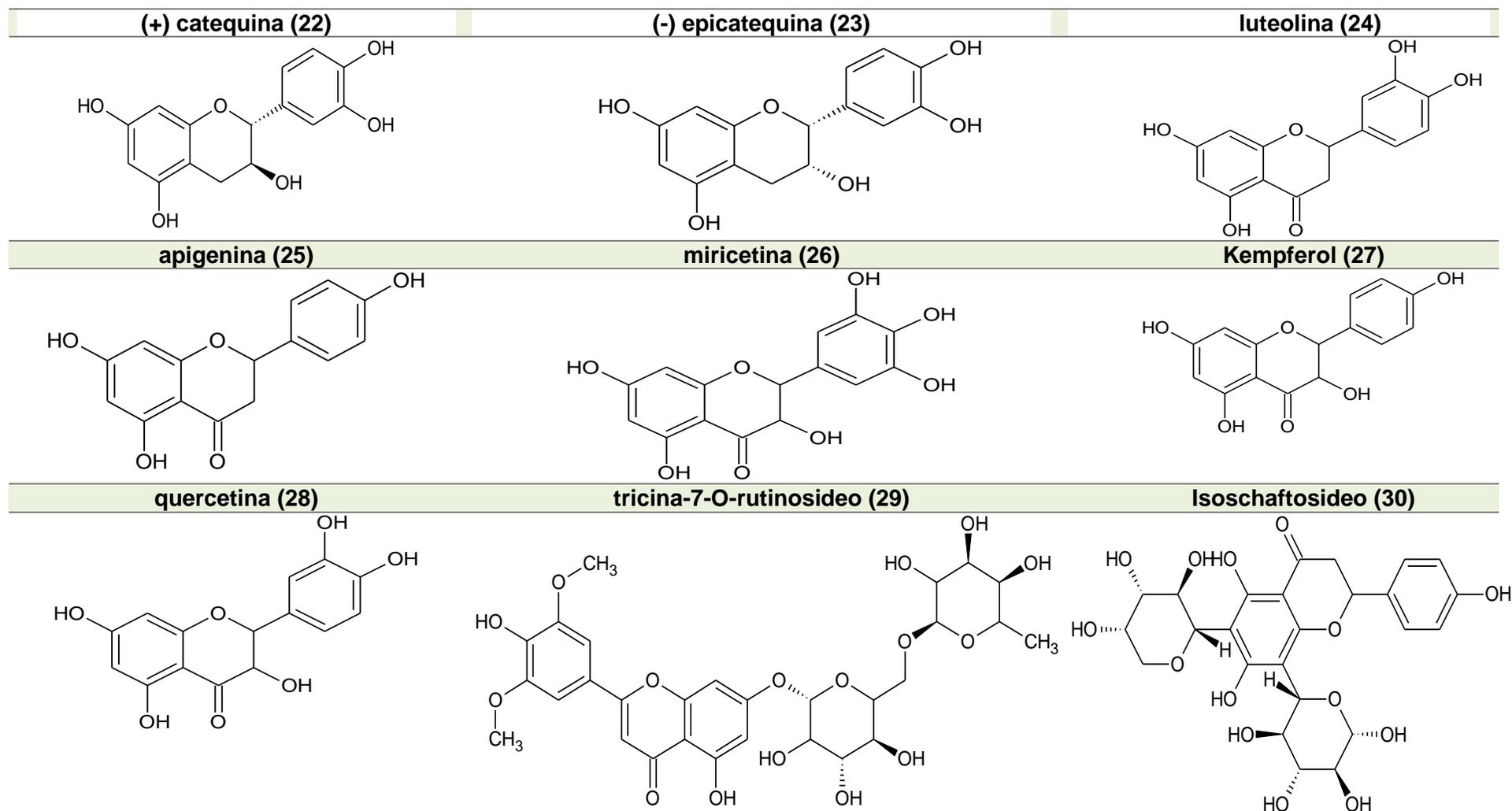
Outro importante agente antioxidante presente no buriti é o ácido ascórbico (15) (**Figura 6, Tabela 3**) (31,86 mg/100g), conhecido como promotor de numerosos processos químicos, bioquímicos e fisiológicos, tanto em animais como em plantas além de desempenhar várias funções no organismo relacionadas ao sistema imune como formação de colágeno, absorção de ferro, e inibição da formação de nitrosaminas (LIMA et al., 2009). Além disso, o ácido ascórbico parece interferir sobre outros fatores relacionados ao risco cardiovascular, como melhorar e contribuir com a integridade do tecido vascular, tônus vascular, metabolismo lipídico e pressão arterial (LIMA et al., 2009; DARNET et al., 2011).

Figura 6 - Estrutura química de tocoferóis, vitamina E, ácido ascórbico e compostos fenólicos de buriti



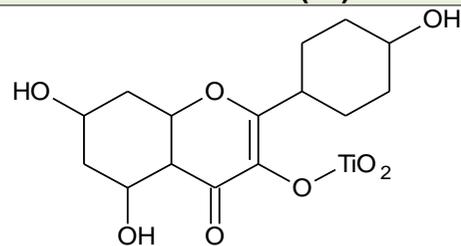
Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Figura 7- Estrutura química de flavonoides isolados em polpa de buriti

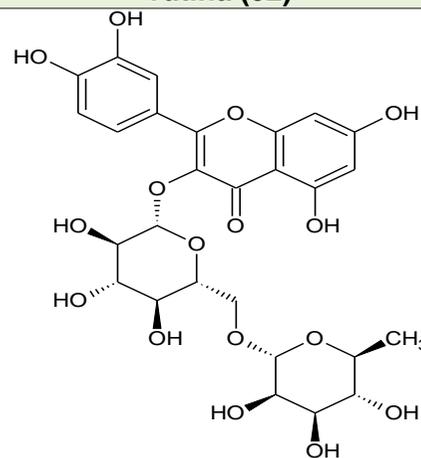


Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

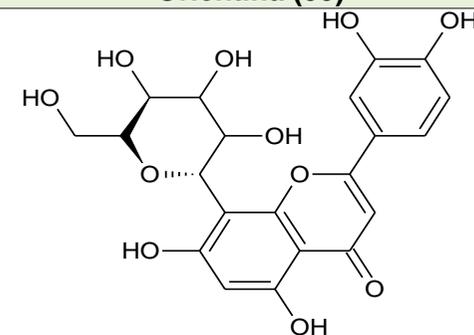
nicotiflorina (31)



rutina (32)



Orientina (33)



isoorientina (34)

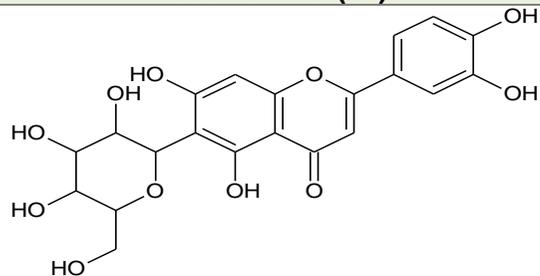
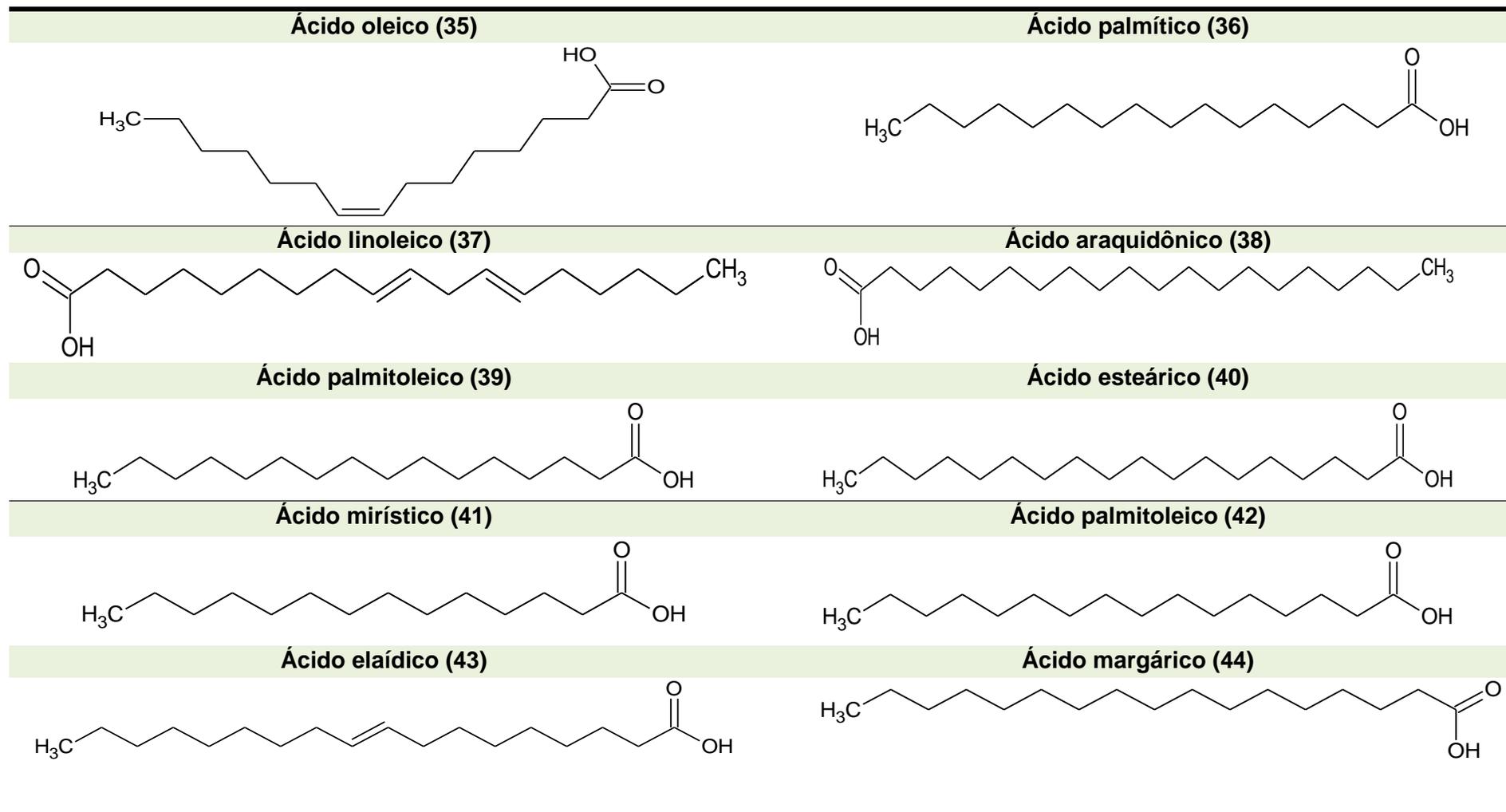


Figura 8 - Perfil de ácidos graxos em polpa de buriti



Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

3.3.3 Compostos fenólicos

A concentração de compostos fenólicos nos frutos de buriti varia conforme estágio de maturação e atinge seu pico entre 210 a 240 dias após a ântese (MILANEZ et al., 2016). Em estudo feito por BATAGLION et al. (2014) que quantificou os compostos fenólicos presentes em extratos da polpa do fruto de buriti da região Amazônica pelo método UHPLC–ESI (-)-MS/MS e encontraram o ácido quínico (16) e outros ácidos fenólicos importantes como o ácido cafeico (17), ácido clorogênico (18), ácidos ferúlico (19), *p*-cumárico (20) e o protocatecuico (21), detectados em quantidades consideráveis nos extratos (**Figura 6, Tabela 3**).

Os flavonoides presentes nos extratos da polpa de *M. flexuosa* incluem a (+) catequina (22), (-) epicatequina (23) e luteolina (24), como as mais abundantes. Outros componentes como apigenina (25), miricetina (26), canferol (27) e quercetina (28), também presentes, entretanto em menor concentração nos extratos de polpa de buriti (BATAGLION et al., 2014). Em extrato de folhas da *Mauritia flexuosa* foi caracterizado 6 diferentes flavonoides com potencial antioxidante: tricina-7-O-rutinosideo (29), isoschaftosideo (30), nicotiflorina (31), rutina (32), orientina (33) e isoorientina (34) (OLIVEIRA et al., 2013) (**Figura 7, Tabela 3**).

3.3.4 Ácidos graxos

O consumo alimentar de óleos de origem vegetal ricos em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados tem associação com diminuição do risco de doenças cardiovasculares (DCV), relacionada ao efeito anti-inflamatório desses ácidos graxos. O papel da dieta vem sendo avaliado em estudos clínicos e epidemiológicos mostrando que quantidade e tipo de gordura exercem influência sobre fatores de risco cardiovasculares devido à concentração lipídica e processos inflamatórios (IGBAL, 2014). A polpa de buriti apresenta 75,7% de ácido oleico (35) e 18,9% de ácido palmítico (36), além de 2,1%, 1,7%, 0,3% e 1,3% de linoleico (37), araquidônico (38), palmitoleico (39) e esteárico (40), respectivamente (DARNET et al., 2011) (**Tabela 3 e 4**). Pelo método de cromatografia gasosa Aquino et al. (2012a), reportaram presença de ácido mirístico (41), palmitoleico (42), elaídico (43), linolênico (44) e margárico (45) (**Figura 8, Tabela 3**).

Alguns desses compostos estão no óleo extraído da polpa do fruto (AQUINO et al., 2012a; MEDEIROS et al., 2015; SPERANZA et al., 2016), rico em ácidos graxos oleico e palmitoleico (**Tabela 3**), e tocoferóis, um indicativo de boas perspectivas do

uso desse produto como alternativa terapêutica e cosmética (ROSSO, MERCADANTE, 2007; BATISTA et al., 2012).

Tabela 4 - Percentual de ácidos graxos em polpa de frutos e óleo de buriti.

Ácidos graxos	Referências			
	A	B	C	D
SATURADO	%			
Mirístico (C14:0)	-	-	0,5	0,5 ± 0,0
Palmítico (C16:0)	20,8 ± 2,3	18,9	-	19,1 ± 0,0
Estearico (C18:0)	1,6 ± 0,1	1,3	2,3	1,3 ± 0,0
Araquidônico (C20:0)	-	1,7	-	0,1 ± 0,0
MONOINSATURADO	%			
Palmitoleico (C16:1)	-	0,3	19,6	-
Oleico (C18:1) cis-9	71,6 ± 2,1	75,7	72,7	65,6 ± 0,0
Elaídico (C20:1)	0,7 ± 0,1	-	-	0,2
POLI-INSATURADO	%			
Linolênico (C18:3)	1,4 ± 0,1	-	2,0	8,2 ± 0,0
Linoleico (C18:2)cis-9,cis-12	2,5 ± 0,1	2,1	2,6	4,9 ± 0,0
Margárico (C17:0)	-	-	0,3	-

A = Santos et al., (2013); B = Darnet et al., (2011); C = Aquino et al., (2012a, 2012b); D = Orsavova et al., (2015).

A proporção de ácidos graxos insaturados identificados na polpa do buriti é semelhante aos encontrados em azeite de oliva e amendoim, considerados de excelente valor nutricional e associado à redução do risco de DCVs (JANG et al., 2015; ORSAVOVA et al., 2015; SPERANZA et al., 2016) (**Tabela 5**).

Quanto ao óleo de canola, vale destacar que o nome canola é derivado da sigla *Canadian Oil Low Acid*, e as sementes para produção desse óleo são obtidas por modificação genética das espécies *Brassica napus* e *Brassica rapa* (campestris), além disso, a estabilidade de óleo de canola é limitada principalmente pela presença de ácido linolênico, clorofila, produtos de decomposição e outros componentes tais como pequenas quantidades de ácidos graxos com mais de três duplas. Estes ácidos graxos altamente insaturados podem possivelmente ser formados durante refino e branqueamento. A presença de 7% a 11% de ácido linolênico na composição do óleo de canola coloca este óleo na mesma categoria que o óleo de soja em relação a sabor e estabilidade oxidativa (FARHOOSH, EINAFSHAR, SHARAYE, 2009).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Tabela 5 - Proporção (%) de ácidos graxos em óleo extraído da polpa de buriti, oliva, canola e amendoim.

Ácido graxo	Buriti ^a	Oliva ^b	Canola ^c	Amendoim ^b
Palmítico (C16:0)	19,2 ± 0,0	16,5	4,5	7,5
Esteárico (C18:0)	1,3 ± 0,0	2,3	1,6	2,1
Palmitoleico (C16:1)	-	1,8	-	0,1
Oleico (C18:1)	65,6 ± 0,0	66,4	64,0	71,1
Linoleico(C18:2)	4,9 ± 0,0	16,4	20,0	18,2
Linolenico(C18:3)	8,2 ± 0,0	1,6	6,9	-
Araquidônico	-	-	0,6	-

(^a) Speranza et al. (2016); (^b) Orsavova et al. (2015); (^c) Jang et al. (2015).

3.3.5 Fitosteróis

Foram identificados em polpa, sementes e óleo de buriti os seguintes fitoesteróis: estigmasterol, β -sitosterol, campesterol e estigmastano-3,5-dieno (DEMBITSKY et al., 2011; SANTOS et al., 2013; BATAGLION et al., 2015). Estes compostos são responsáveis por reduzir a absorção de colesterol no intestino em até 30% por atividade de competição entre eles, devido à semelhança estrutural entre as suas moléculas e as estruturas químicas de colesterol (PLUMB et al., 2011). De modo que reduzem os níveis séricos de colesterol LDL em 8 - 10% se forem consumidos 1,6 - 2,0 g de fitoesteróis/dia (MARANGONI, POLI, 2010; PLUMB et al., 2011).

3.3.6 Polissacarídeos e fibras dietéticas

Os componentes de fibra alimentar ou fibra dietética dividem-se nos grupos: polissacarídeos, oligossacarídeos, carboidratos análogos (amido e maltodextrina resistente), lignina, compostos associados à fibra alimentar (compostos fenólicos, proteína de parede celular, oxalatos, fitatos) e fibras de origem animal. A maioria das investigações sobre paredes celulares (microfibrilas de celulose) indicam que as paredes das *Arecaceae* têm uma composição semelhante às paredes de dicotiledôneas e monocotiledôneas com grandes proporções de polissacarídeos pecticos e quantidades menores de xiloglicanos (CANTU-JUNGLES et al., 2015).

De forma simplificada, as fibras são classificadas como solúveis (viscosas e facilmente fermentáveis no cólon como a pectina) e insolúveis (que possui ação no aumento de volume do bolo fecal, mas que possui fermentação limitada no cólon).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Assim, vale destacar que o fruto de buriti deve ser considerado como fonte de fibras solúveis e insolúveis, pois recentemente foram identificados polissacarídeos lineares na polpa de buriti (CORDEIRO et al., 2015). Estes achados corroboraram com estudos anteriores, que demonstraram ser os polissacarídeos pécticos (pectina) os mais abundantes na polpa do fruto (CANTU-JUNGLES et al., 2015).

Além disso, é relevante considerar que a polpa possui em média, $5,17 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fibra alimentar (MANHÃES, SABAAR-SRUR, 2011) e a farinha do endocarpo de buriti, é fonte potencial de fibra alimentar ($70,53 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), com $3,03 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fibra alimentar solúvel e $67,50 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fibra insolúvel, portanto, a adição desta farinha em biscoitos tipo *cookie*, aumentou a disponibilidade de ingredientes funcionais fonte de fibra dietética (BECKER et al., 2014).

3.4 Atividades farmacológicas da *M.flexuosa*

3.4.1 Propriedades antioxidantes e quimiopreventivas

Tendo em vista os vastos benefícios fornecidos por compostos antioxidantes ao organismo como a inibição da peroxidação lipídica por sequestrar radicais livres, quantidades relativas desses compostos inseridas na dieta diminuem o estresse oxidativo, causado pela deficiência de antioxidantes e/ou excessiva quantidade de pró-oxidantes. Eles também são responsáveis por aumentar a resistência do LDL-colesterol à oxidação, diminuindo o risco de arteriosclerose coronária (CASE et al., 2007; CANUDO et al., 2010).

O buriti apresenta constituintes químicos que lhe garantem um interessante potencial antioxidante. Por exemplo, um estudo de caracterização química realizado com extrato das folhas da *Mauritia flexuosa* identificou 6 diferentes flavonoides com potencial antioxidante: tricina-7-O-rutinosídeo, isoschaftosídeo, nicotiflorina, rutina, orientina e isorientina. (OLIVEIRA et al., 2013). Koolen et al. (2013a) avaliou o potencial antioxidante de extratos metanólicos das folhas, frutos e caule da *Mauritia flexuosa* e demonstraram maior potencial antioxidante no extrato da folha (pelo método de redução de ferro) e no extrato da polpa (método DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazina). Milanez et al. (2016) avaliaram a atividade antioxidante da polpa de buriti por dois métodos: ORAC e DPPH, tendo observado a maior atividade antioxidante entre 210 e 240 dias após a ântese (abertura dos botões florais).

As diferenças encontradas na ação antioxidante dessas análises estão provavelmente associadas a concentrações distintas dos constituintes químicos em

cada parte da planta, principalmente flavonoides e antocianinas. Tal atividade também foi detectada em amostras de óleos e extratos aquosos de buriti da Amazônia brasileira e do Cerrado (FERREIRA et al., 2011b).

Amostras da savana brasileira geralmente apresentam melhores desempenhos quando comparadas com frutos da região da Amazônia. Estes achados são explicados por diferenças nas condições do bioma. A Amazônia é quente e úmida, enquanto o Cerrado apresenta um clima mais seco. Além disso, seu solo é mais ácido e rico em sais de alumínio, o que provavelmente irá gerar maior estresse oxidativo para as plantas, que reagem produzindo agentes antioxidantes (CÂNDIDO et al., 2015).

A vitamina E (10) (**Fig. 6, Tabela 3**) age como um importante antioxidante natural em alimentos, especialmente aqueles ricos em ácidos graxos poli-insaturados. Devido ao seu papel de carreador de radicais livres, é possível que a vitamina E nos proteja contra doenças crônicas, particularmente câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Rodrigues et al. (2010) encontraram níveis elevados de vitamina E no óleo de polpa de buriti, com predominância da fração $\beta + \gamma$ tocoferol (58,3%), o que a torna similar a muitos óleos extraídos de nozes e outras sementes brasileiras.

Conforme descrito acima, foram detectados compostos fenólicos em extratos de polpa (BATAGLION et al., 2014). Esses compostos fenólicos são uma importante classe de antioxidantes naturais, pois apresentam efeitos benéficos contra doenças diretamente ou indiretamente relacionadas ao estresse oxidativo, incluindo câncer, inflamação, diabetes, distúrbios cardiovasculares ou neurodegenerativos. A quimioprevenção, por meio dos alimentos funcionais, emerge como um promissor instrumento no controle de câncer, através de prováveis mecanismos de ação antioxidantes, antiinflamatórios, anti-hormonais, antiangiogênicos, dentre outros, embora as evidências científicas sejam controversas, e fracamente sustentadas por estudos epidemiológicos. Dentre os compostos alimentares estudados por sua ação quimiopreventiva, os principais são: o ácido linoléico conjugado (CLA), os ácidos graxos poliinsaturados n-3, os fitoquímicos (isoflavonas, lignanas e outros compostos não-nutrientes), bem como vitaminas e minerais (NWOSU et al., 2011).

3.4.2 Fotoproteção contra radiação UVA e UVB

Uma via terapêutica para a fotoproteção é utilizar formulações farmacêuticas tópicas, principalmente se tiverem potencial antioxidante para evitar o estresse oxidativo causado pelos radicais livres advindos da radiação solar (ZANATTA et al., 2010). Tarozzi et al. (2005) avaliaram os efeitos protetores da cianidina-3-O-beta-

glicopiranosídeo (C-3-G) contra a apoptose induzida por UVA e a fragmentação do DNA em uma linha de células de queratinócitos humanos (HaCaT). Quando comparado à atividade antioxidante Equivalente Trolox, o tratamento com C-3-G levou a um maior aumento da atividade antioxidante na fração membranar do que no citosol (55% versus 19%). Os efeitos protetores contra a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) induzido por UVA podem ser atribuídos à incorporação da membrana de C-3-G em níveis mais elevados.

Testes *in vitro* usando emulsões de óleo de buriti como veículo para fotobloqueadores revelaram que algumas formulações diminuíram o dano celular causado em queratinócitos pela radiação UVA e UVB, sendo considerado como uma formulação potencial a ser utilizada após exposição ao sol e como fotobloqueador adjunto (ZANATTA et al., 2010). Além disso, o óleo parece contribuir para a formação e deposição de fibras de colágeno e provê estimulação e proliferação celular (BATISTA et al., 2012).

3.4.3 Ação Antiagregante Plaquetário e Antitrombótico

A patogênese das doenças cardiovasculares apresenta entre outros fatores a agregação plaquetária como evento protagonista de curso (MICHELSON, 2010). Portanto, o consumo elevado de ácidos graxos mono e poli-insaturados tem sido associado a uma diminuição do risco de eventos cardiovasculares, como hiperlipidemia, acidente vascular cerebral (AVC) e infarto. Esse fato pode ser correlacionado com o efeito anti-inflamatório desses ácidos, que diminuem a ativação da cascata de coagulação, por diminuir o dano oxidativo e a ativação plaquetária de modo indireto (LIN et al., 2016).

Pesquisas realizadas com óleo de buriti em ensaios *in vitro* de ativação e agregação plaquetária verificou que o tratamento das plaquetas com o extrato inibiu a expressão da P-selectina induzida por trombina, e inibiu a secreção de ATP plaquetário. O óleo também teve a capacidade de: (1) reduzir a formação de trombo ao inibir a adesão e a interação plaquetária na presença de colágeno e (2) reduzir a capacidade de interação entre plaquetas e leucócitos, fator importante na ativação da cascata de coagulação e formação do trombo plaquetário (FUENTES et al., 2013).

Portanto, é pertinente considerar que o óleo do buriti pode ser incorporado à dieta como um agente de prevenção da agregação plaquetária e trombogênese, sem que haja efeitos adversos comuns da terapia antiagregante plaquetária, já que o seu

consumo é comum e recorrente em diversas regiões da América Latina (FUENTES et al., 2013).

3.4.4 Atividade Antimicrobiana

Extratos metanólicos de polpa *Mauritia flexuosa* possuem uma riqueza de compostos fenólicos, dentre eles, o ácido clorogênico (ACs) e o ácido cafeico, que apresentam efeito imunomodulador e antimicrobiano (KOOLEN et al., 2013b). Este último inibe o fator de necrose tumoral (TNF- α) e também possui atividade antimicrobiana (ARMUTCU et al., 2015). Ações bioativas similares foram encontradas em quercetina extraída da polpa do fruto de buriti (BENAVIDES et al., 2013).

Koolen et al. (2013a) avaliaram o potencial antimicrobiano de extratos metanólicos de diversas partes vegetais do buriti contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* e *Bacillus cereus*. Em seguida, Koolen et al. (2013b) isolaram das raízes de *M. flexuosa* triterpenos com atividade antimicrobiana contra 15 diferentes microrganismos entre fungos e bactérias, com concentrações inibitórias mínimas (MIC) variando de 50,8 a 203,5 μ M.

Siqueira et al. (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de partes vegetais da *Mauritia flexuosa* (folha, caule e fruto) contra cepas de *Staphylococcus aureus*, meticilina susceptível (MSSA) e meticilina resistente (MRSA). Neste caso, o extrato do caule apresentou boa inibição de crescimento em ambas as cepas (31,3 μ g/mL), enquanto o extrato das folhas apenas apresentou boa atividade contra MRSA (62,5 μ g/mL). Curiosamente, ambos os extratos apresentaram resultados mais promissores que os controles positivos utilizados, a canamicina (256 μ g/mL) e a gentamicina (256 μ g/mL) (SIQUEIRA et al., 2014).

3.4.5 Efeito antitumoral *in vitro*

A quimioterapia frequentemente apresenta efeitos colaterais e resistência para pacientes com câncer, por isso a busca de novas alternativas com potencial antitumoral é essencial. As plantas têm uma longa história na medicina como uma excelente fonte de novos constituintes químicos que apresentam atividade antineoplásica bem documentada, como alguns compostos fenólicos (FERREIRA et al., 2011b, 2016a), especialmente a quercetina também presente no buriti (BATAGLION et al., 2014).

Alguns extratos de partes do fruto de buriti demonstraram efeito citotóxico em cinco linhagens de células tumorais humanas (leucemias e carcinoma colorretal e de

mama) com resultados semelhantes ao controle positivo usado (doxorubicina e cisplatina) (SIQUEIRA et al., 2014). Entre todos os extratos e frações testados, somente as frações de diclorometano de folhas e caules foram ativas em linhagens celulares tumorais, apresentando valores de IC₅₀ entre 20,3 a 79,0 µg/mL (SIQUEIRA et al., 2014).

Um novo triterpeno em raízes de *M. flexuosa* chamado ácido maurítico, demonstrou efeitos citotóxicos significativos contra linhagens de carcinoma OVCAR-8 (ovariano), PC-3M (próstata) e NCIH-358M (broncoalveolar pulmonar) com valores de IC₅₀ de 3,0, 2,4 e 6,2 µM, respectivamente (KOOLEN et al., 2013b).

3.4.6 Propriedade hipolipemiante

Distúrbios do metabolismo de lipídios são os principais fatores de risco para muitas doenças cardiovasculares e metabólicas. É crescente a atenção dos pesquisadores em investigar substâncias naturais, advindas de diferentes partes de plantas, com enfoque na capacidade de regular o metabolismo de lipídios e conhecer os mecanismos de ação e efeitos biológicos, para fornecer subsídios à potencial aplicação terapêutica destas substâncias como uma droga hipolipemiante alternativa.

Os extratos metanólicos de diferentes partes da *Mauritia flexuosa* (folha, caule e fruto) possuem quantidades significantes de compostos fenólicos, em destaque para estudo de Koolen et al. (2013) em que no fruto pesquisado na Amazônia do Brasil, foi identificado o ácido clorogênico e o protocatecuico como majoritários (CHO et al., 2010). Tanto o ácido cafeico como o clorogênico reduziram significativamente a síntese de ácidos graxos, por inibir a atividade da HMG CoA redutase (3 hidroxil-3-metilglutaril coenzima A redutase) sugerindo que os dois ácidos possuem efeitos biológicos de melhorar o peso corporal, o metabolismo lipídico e níveis de hormônios relacionados à obesidade como a leptina e a adiponectina (CHO et al., 2010).

Ratos jovens foram avaliados após suplementação com óleo de buriti cru e refinado e revelaram que os animais alimentados com óleo refinado mostraram redução do colesterol total (60,3%), de lipopreína de baixa densidade (LDL-c, 64,7%), triglicerídeos (55,5%) e na enzima aspartato transaminase (21,6%) em comparação àqueles alimentados com dieta adicionada de óleo cru. Algumas análises fitoquímicas demonstraram que em óleo cru extraído da *M. flexuosa* existe maiores concentrações de fitoesteróis, vitaminas, antioxidantes e pigmentos (AQUINO et al., 2012a, 2015; MILANEZ et al., 2016), substâncias que estão frequentemente associadas à redução de colesterol sérico e estresse oxidativo.

Por outro lado, os óleos crus também possuem maior concentração de substâncias e impurezas (peróxidos e hidroperóxidos, substâncias voláteis e não voláteis) relacionadas com o aumento de dislipidemias, hipertensão, inflamação, estresse oxidativo, disfunção endotelial e a aterosclerose (NG et al., 2014).

3.4.7 Potencial hipoglicemiante

Compostos fenólicos são capazes de melhorar o perfil glicídico e favorecer a tolerância à glicose (CASE et al., 2007; BATAGLION et al., 2014). O ácido protocatecuico (APC), encontrado em extrato do fruto do buriti da Amazônia em grande quantidade, possui atividade hipoglicemiante (BATAGLION et al., 2014). Estudos sugerem que a ingestão de compostos bioativos específicos, como o ácido protocatecuico, pode ter efeitos clínicos benéficos sobre o tecido adiposo em parte devido às suas propriedades anti-inflamatórias e de sensibilizade à insulina. O APC mostrou ser protetor contra a resistência à insulina usando células de adipócitos humanos, em estudo *in vitro* (LEE, JEON, 2013; BATAGLION et al., 2014; SCAZZOCCHIO et al., 2015).

3.4.8 Capacidade de cicatrização em ratos

Um creme base com 10% de óleo de buriti foi avaliado quanto a capacidade de cicatrização em *Rattus norvegicus*. As avaliações clínicas, morfométricas e histopatológicas apresentaram presença imediata de crosta sobre a ferida constituída por glóbulos vermelhos, fibrina, detritos celulares e células polimorfonucleares no 3º dia e contração das lesões até o 21º dia. No 14º, os ferimentos tratados com óleo de buriti apresentaram aumento de fibroblastos e fibras de colágeno e um processo completo de reepitelização (BATISTA et al., 2012).

3.4.9 Efeitos sobre o estado de retinol e tocoferol

Aquino et al. (2015) demonstraram em ratos jovens que o retinol sérico e hepático e o tocoferol foram 2 a 3 vezes maiores em grupos que consumiram óleo de buriti adicionado à dieta quando comparados com o grupo controle. Medeiros et al. (2015) também demonstraram que o óleo de buriti aumentava a deposição de retinol sérico e hepático em ratos neonatais, em grupos onde foi adicionado à dieta óleo de buriti durante a gestação e a lactação.

3.4.10. Potencial Prebiótico

Polissacarídeos desempenham funções essenciais em frutos de palmeiras, contudo da espécie *Aricaceae*. Assim, os dados sobre a química dos polissacarídeos são cruciais para compreender os aspectos nutricionais e tecnológicos das frutas. Esses polissacarídeos exibem uma variedade de propriedades em mamíferos, incluindo viscosidade no trato gastrointestinal, fermentação, efeitos prebióticos, absorção de glicose, de lipídeos e de minerais (ELLEUCH et al., 2011, SILVA et al., 2014).

Os componentes de fibra dietética que não são absorvidos (insolúveis) seguem para o intestino grosso e nesse local, fornecem o substrato para as bactérias intestinais. As fibras solúveis são normalmente fermentadas rapidamente, enquanto as insolúveis são lentamente ou apenas parcialmente fermentadas. A fermentação é realizada por bactérias anaeróbias do cólon (gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, por exemplo), levando à produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta e gases. Conseqüentemente, existe uma redução do pH no lúmen e estimulação da proliferação de células epiteliais no cólon (SILVA, 2014). Embora estudos tenham quantificado fibra total, fibra solúvel e insolúvel (MANHÃES, SABAA-SRUR, 2011; BECKER et al., 2014) e outros polissacarídeos (CANTU-JUNGLES et al., 2015, CORDEIRO et al., 2015) não existem estudos que relacionem esses compostos com o efeito prebiótico no buriti.

4 Conclusões e perspectivas

A *Mauritia flexuosa* representa uma oportunidade para os produtores nacionais e internacionais terem acesso a mercados especiais onde os consumidores buscam características exóticas e complementação nutricional. Os nutrientes do buriti podem ser usados para prevenir doenças neurodegenerativas e é uma excelente fonte de compostos bioativos com propriedade antioxidante, hipolipemiante, protetor solar, antiplaquetário, antitrombótico, hipoglicêmico, antimicrobiano e antitumorais.

A tecnologia de alimentos e a biotecnologia sustentável são campos vazios a serem explorados com *M. flexuosa*, uma vez que esse fruto possui sabor e aroma agradáveis, além de macro e micronutrientes de grande relevância para o desenvolvimento de novos produtos nas áreas farmacêutica, alimentar e terapêutica. No entanto, isso requer um grande investimento em Pesquisa e Desenvolvimento (P &

D), com foco na obtenção de novas formas de realizar o processamento da polpa de buriti e demais subprodutos, como forma de avançar na industrialização e no mercado.

Existe uma diversidade de formas de utilizar a *M. flexuosa* numa comunidade como alimento (fruta) e com fins de economia doméstica. Então, é fundamental que líderes públicos promovam ações para estimular a gestão sustentável do buriti, com incentivo de pesquisas que contribua para conservação e uso sustentável das florestas nativas, consciência ambiental, redução de erros de corte das folhas, adequada colheita e extração (polpa e óleo), assim como um manuseio correto de toda a cadeia produtiva.

REFERÊNCIAS

AQUINO, J.S.; PESSOA, D.C.N.D.; ARAÚJO, K.L.G.V.; EPAMINONDAS, P.S.; SCHULER, A.R.; SOUZA, A.G.; STAMFORD, T.L.M. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) originated from the Brazilian Cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.23, p. 212-19, 2012a.

AQUINO, J.S.; PESSOA, D.C.N.D.; OLIVEIRA, C.E.V.; CAVALHEIRO, J.M.O.; STAMFORD, T.L.M. Making cookies with buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.): an alternative source of dietary vitamin A in school meals. **Revista de Nutrição**, v. 25, p. 765-74, 2012b.

AQUINO, J.S.; SOARES, J.K.B.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T.C.M.; MASCARENHAS, R.J.; TAVARES, R.L.; STAMFORD, T.L.M. Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v.20, p. 9054-9070, 2015.

ARMUTCU, F.; AKYOL, S.; USTUNSOY, S.; TURAN, F.F. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). **Experiental and Therapeutic Medicine**, v. 9, p.1582-88, 2015.

BARBOSA, R.L.; LIMA, A.D.; JUNIOR, M.M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.): estimativas de produtividade de polpa e óleo vegetal em uma área de savana em Roraima. **Amazônia: INPA**, CPEC; p.24, 2009.

BATAGLION, G.A.; SILVA, F.M.A.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H.F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396-400, 2014.

BATAGLION, G.A.; DA SILVA, F.M.A.; SANTOS, J.M.; BARCIA, M.T.; GODOY, H.T.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H.F. Integrative Approach Using GC-MS and Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (EASI-MS) for Comprehensive Lipid Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa*) Oil. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 26, p.171-7, 2015.

- BATISTA, J.S.; OLINDA, R.G.; MEDEIROS, V.B.; RODRIGUES, C.M.F.; OLIVEIRA, A.F.; PAIVA, E.S.; FREITAS, C.I.A.; MEDEIROS, A.C. Antibacterial and healing activities of buriti oil *Mauritia flexuosa* L. **Ciencia Rural**, v. 42, p. 136-41, 2012.
- BECKER, F.S.; DAMIANI, C.; MACHADO, A.A.M.; BORGES, P.R.S.; VILAS, E.V.B. Incorporation of Buriti Endocarp Flour in Gluten-free Whole Cookies as Potential Source of Dietary Fiber. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, p. 344-50, 2014.
- CANDIDO, T.L.N.; SILVA, M.R.; AGOSTINI, T.S.C. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L f) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v.177, p.313-19, 2015.
- CANTU JUNGLES, T.M.; ALMEIDA, C.P.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T.R.; CORDEIRO, L.M. Arabinan-rich pectic polysaccharides from buriti (*M.flexuosa*): an Amazonian edible palm fruit. **Carbohydrate Polymers**, v.122, p. 276-278, 2015.
- CANUDO, G.A.B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M.T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 1196-205, 2010.
- CARNEIRO, B.T.; CARNEIRO, J.G.M. Frutos e polpa desidratada do Buriti (*M. flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v. 6, p.105-11, 2011.
- CASE, C.; LARES, M.; PALMA, A.; BRITO, S. Blood glucose and serum lipid levels in the Venezuelan Warao tribe: Possible relationship with moriche fruit (*Mauritia flexuosa* L.) intake. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease**, v. 17, p. E1–E2, 2007.
- CHO, A.S.; JEON, S.M.; KIM, M.J.; YEO, J.; SEO, K.L.; CHOI, M.S.; LEE, M.K. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. **Food Chemical Toxicology**, v. 48, p. 937-43, 2010.
- CORDEIRO, L.M.; ALMEIDA, C.P.; IACOMINI, M. Unusual linear polysaccharides:(1→5)- α -l-Arabinan (1→3)-(1→4)- α -d-glucan and (1→4)- β -d-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. **Food Chemistry**, v.173, p.141-6, 2015.
- DARNET, S.H.; SILVA, L.H.M.; RODRIGUES, A.M.C.; LINS, R.T. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, p.488-91, 2011.
- DEMBITSKY VM, POOVARODOM S, LEONTOWICZ H, LEONTOWICZ M, VEARASILP S, TRAKHTENBERG S, GORINSTEIN S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, v.44, p.1671–1701, 2011.
- EDDOUKS, M.; CHATTOPADHYAY, D.; FEO, D.E.; CHO, V.; WILLIAM, C. Medicinal Plants in the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v.2012, p.1-2, 2012.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124, p. 411-21, 2011.

FARHOOSH, R.; EINAFSHAR, S.; SHARAYEI, P. The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. **Food Chemistry**, Mashhad, n. 115, p.933-938, 2009.

FERREIRA, B.S.; DE ALMEIDA, C.G.; FAZA, L.P.; DE ALMEIDA, A.; DINIZ, C.G.; DA SILVA, V.L.; GRAZUL, R.M.; HYARIC, M. Comparative properties of Amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v.16, p.5875-585, 2011a.

FERREIRA, P.M.P.; COSTA-LOTUFO, L.V.; MORAES, M.O.; BARROS, F.W.A.; MARTINS, A.M.A.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; SANTOS, A.G.; PESSOA, C. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. **Anais de Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, p.1373-84, 2011b.

FERREIRA, P.M.P.; BEZERRA, D.P.; NASCIMENTO, S.J.; COSTA, M.P.; FERREIRA, J.R.O.; ALENCAR, N.M.N.; DE FIGUEIREDO, I.S.T.; CAVALHEIRO, A.J.; MACHADO, C.M.L.; CHAMMAS, R.; ALVES, A.P.N.N.; MORAES, M.O.; PESSOA, C. Preclinical anticancer effectiveness of fraction from *Casearia sylvestris* and its component CasearinX: *in vivo* and *ex vivo* methods and microscopy examinations. **Journal of Ethnopharmacology**, v.186, p. 270-9, 2016a.

FERREIRA, R.; BEZERRA, L.; EDVAN, R.; ARAÚJO, M.; MARQUES, C.; TORREÃO, J.; OLIVEIRA, R.; PARENTE, H. Physicochemical composition and ruminal degradability of leucaena ensiled with different levels of buriti fruit peel. **Grassland Science**, v. 62, p.160-166, 2016 b.

FUENTES, E.; RODRIGUÉZ-PÉREZ, W.; GUZMÁN, L.; ALARCÓN, M.; NAVARRETE, S.; FORERO-DORIA, O.; PALOMO, I. *Mauritia flexuosa* presents *in vitro* and *in vivo* antiplatelet and antithrombotic activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.65, p. 3257-68, 2013.

GILMORE, M.P.; ENDRESS, B.A.; HORN, C.M. The socio-cultural importance of *Mauritia flexuosa* palm swamps (aguajales) and implications for multi-use management in two Maijuna communities of the Peruvian Amazon. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, p.6-29, 2013.

GONZÁLEZ- VALLINAS M, GONZÁLEZ- CASTEJÓN M, RODRÍGUEZ- CASADO A, DE MOLINA A.R. Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy: a complementary approach with promising perspectives. **Nutrition Reviews**, v. 71, p.585-99, 2013.

IGBAL, M.P. Trans fatty acids – A risk factor for cardiovascular disease. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 30, p.194-7, 2014.

JANG, A.; BAE, W.; HWANG, H.S.; LEE, H.G.; LEE, S. Evaluation of canola oil oleogels with candelilla wax as an alternative to shortening in baked goods. **Food Chemistry**, v. 187, p. 525-9, 2015.

KOOLEN, H.H.; DA SILVA, F.M.; GOZZO, F.F.; DE SOUZA, A.Q.L.; DE SOUZA, A.D.L.. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds

from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, p. 467-73, 2013a.

KOOLEN, H.H.; SOARES, E.R.; DA SILVA, F.M.; DE OLIVEIRA, A.A.; DE SOUZA, A.Q.; DE MEDEIROS, L.S.; RODRIGUES-FILHO, E.; CAVALCANTE, B.C.; PESSOA, C.O.; MORAES, O.M.; SALVADOR, M.J.; DE SOUSA, A.D. Mauritic acid: a new dammarane triterpene from the roots of *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae). **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 27, p. 2118-2125, 2013b.

LEE, S.H.; JEON, Y.J. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. **Fitoterapia**, v. 86, p. 129-36, 2013.

LIMA, A.L.; LIMA, K.S.; COELHO, M.J.; SILVA, J.M.; GODOY, R.L.; PACHECO, S. Evaluation of gamma irradiation effects on carotenoids, ascorbic acid and sugar contents of buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.). **Acta Amazônica**, v. 39, p. 649 – 54, 2009.

LIM, S.S.; VOS, T.; FLAXMAN, A.D.; DANAEI, G.; SHIBUYA, K.; ADAIR-ROHANI, H.; AMANN, M.; ANDERSON, H.R.; ANDREWS, K.G. et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. **The Lancet**, v. 380, p. 2224-60, 2012.

LIN, C.; RAJALAHTI, T.; MJØS, S.A.; KVALHEIM, O.M. Predictive associations between serum fatty acids and lipoproteins in healthy non-obese Norwegians: implications for cardiovascular health. **Metabolomics**, v.12, p.6-13, 2016.

LIU, R. H. Health-Promoting Components of Fruits and Vegetables in the Diet. **Advances in Nutrition**, v. 4, p. 3845-25, 2013.

MARANGONI, F.; POLI, A. Phytosterols and cardiovascular health. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 193–9, 2010.

MANHÃES, L.; MENEZES, E.; MARQUES, A.; SABAA-SRUR, A. Flavored Buriti Oil (*Mauritia flexuosa*, Mart.) for Culinary Usage: Innovation, Production and Nutrition Value. **Journal of Culinary Science and Technology**, v. 13, p. 362-74, 2015.

MANHÃES, L.R.; SABAA-SRUR, A. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 856-63, 2011.

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M.A.; DE LA FUENTE-ARRILLAGA, C.; LÓPEZ-DELBURGO, C.; VÁZQUEZ-RUIZ, Z.; BENITO, S.; RUIZ-CANELA, M. Low consumption of fruit and vegetables and risk of chronic disease: a review of the epidemiological evidence and temporal trends among Spanish graduates. **Public Health Nutrition**, v.14, p. 2309-15, 2011.

MEDEIROS, M.C.; AQUINO, J.S.; SOARES, J.; FIGUEIROA, E.S.; MESQUITA, H.M.; PESSOA, D.C.; STAMFORD, T.M. Buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) negatively impacts somatic growth and reflex maturation and increases retinol deposition in young rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 46, p. 7-13, 2015.

MICHELSON, A.D. Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, p.154-169, 2010.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

MILANEZ, J.T.; NEVES, L.C.; DA SILVA, P.M.C.; BASTOS, V.J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R.C.; ROBERTO, S.R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* L.F.), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. **Science Horticulturae**, v. 202, p. 77–82, 2016.

MORAES, L.R.; GUTJAHR, E. Química de oleaginosas: valorização da biodiversidade amazônica. **Agência de Cooperação Técnica Alemã (GTZ)**, Brasília, DF. 83p., 2009.

MORI, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; HASHIZUME, K.. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1935-1945. 2007.

National Research Council - NRC. 1989. **Recommended Dietary Allowances**. 10th ed. Washington: National Academy Press.

NWOSU, F.; MORRIS, J.; LUND, V.A.; STEWART, D.; ROSS, H.A.; MCDUGALL, G.J. Anti-proliferative and potential anti-diabetic effects of phenolic-rich extracts from edible marine algae. **Food Chemistry**, v. 126, p.1006 -1012, 2011.

NG, C.Y.; LEONG, X.F.; NAMASBAH, N.; ADAM, S.K.; KAMISAH, Y.; JAARIN, K. Heated vegetable oils and cardiovascular disease risk factors. **Vascular Pharmacology**, v. 61, p. 1-9, 2014.

OLIVEIRA, D.M.; SIQUEIRA, E.P.; NUNES, Y.R.; COTA, B.B. Flavonoids from leaves of *Mauritia flexuosa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, p. 614-20, 2013.

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J.V.; VICHA, R.; MLCEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p. 12871-12890, 2015.

PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J-O.; DOMMES, J. Cultivars, culture conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Journal of Food Science**, v.77, p. 205-10, 2012.

PLUMB, J.A.; RHODES, M.J.C.; LAMPI, A.M.; BUCHGRABER, M.; KROON, P.A. Phytosterols in plant foods: Exploring contents, data distribution and aggregated values using an online bioactives database. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p.1024–1031, 2011.

RODRIGUES, A.M.; DARNET, B.S.; SILVA, L.H. Fatty acid profiles and tocopherol contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 2000-2004, 2010.

ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 5062-72, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SAMPAIO, M.B.; SCHMIDT, I.B.; FIGUEIREDO, I.B. Harvesting Effects and Population Ecology of the Buriti Palm (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) in the Jalapão Region, Central Brazil. **Economic Botany**, v. 62, p. 171-81, 2008.

SPERANZA, P.; RIBEIRO, A.P.B.; MACEDO, G.A. Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area. **Journal of Biotechnology**, v. 218, p.13–20, 2016.

SANTOS, C.A.; RIBEIRO, R.C.; SILVA, V.C.; SILVA, N.S.; SILVA, B.A.; SILVA, G.F.; BARROS, B.C. Elaboração de biscoito de farinha de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) com e sem adição de aveia (*Avena sativa* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 262-73, 2011.

SANTOS, M.F.; MARMESAT, S.; BRITO, E.S.; ALVES, R.E.; DOBARGANES, M. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas Aceites**, v. 64, p. 328-34, 2013.

SANTOS, M.F.; ALVES, R.R.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas Aceites**, v.66, p. 1-8, 2015.

SCAZZOCCHIO, B.; VARI, R.; FILESI, C.; DEL GAUDIO, I.; D'ARCHIVIO, M.; SANTANGELO, C.; IACOVELLI, A.; GALVANO, F.; PLUCHINOTTA, F.R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Protocatechuic acid activates key components of insulin signaling pathway mimicking insulin activity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, p.1472–81, 2015.

SILVA, J.K.; CAZARINA, C.B.B.; BOGUSZ JUNIOR, S.; AUGUSTO, F.; MARÓSTICA JUNIOR, M.R. Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel increases colonic production of short-chain fatty acids in Wistar rats. **Food Science and Technology**, v. 59, p.1252–7, 2014.

SIMÕES, E.R.; SANTOS, E.A.; ABREU, M.C.; SILVA, J.N.; NUNES, N.M.F.; COSTA, M.P.; PESSOA, O.D.; PESSOA, C.; FERREIRA, P.M.P. Biomedical properties and potentiality of *Lippia microphylla* Cham. and its essential oils. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 4, p. 256-63, 2015.

SIQUEIRA, E. P.; ANDRADE, A. A.; DE SOUZA-FAGUNDES, E. M.; RAMOS, J. P.; KOHLHOFF, M.; NUNES, Y. R.; COTA, B. B. *In vitro* antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, p. 1408-17, 2014.

TAROZZI, A.; MARCHESI, A.; HRELIA, S.; ANGELONI, C.; ANDRISANO, V.; FIORI, J. Protective effects of cyanidin-3-O-b-glucopyranoside against UVA-induced oxidative stress in human keratinocytes. **Photochemistry and Photobiology**, v. 81, p. 623-629, 2005.

TULIPANI, S.; ALVAREZ-SUAREZ, J.M.; BUSCO, F.; BOMPADRE, S.; QUILES, J.L.; MEZZETTI, B.; MAURIZIO, B. Strawberry consumption improves plasma antioxidant

status and erythrocyte resistance to oxidative haemolysis in humans. **Food Chemistry**, v.128, p.180-6, 2011.

VÁSQUEZ-OCMÍN, P.G.; ALVARADO, L.F.; SOLÍS, V.S.; TORRES, R.P.; MANCINI-FILHO, J. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L.f, from the Peruvian Amazon. **Grasas Aceites**, v. 61, p. 390-7, 2010.

ZANATTA, C.F.; UGARTONDO, V.; MITJANS, M.; ROCHAFILHO, P.A.; VINARDEL, M.P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. **Food and Chemical Toxicology (FCT)**, v. 48, p. 70-5, 2010.

CAPÍTULO 2

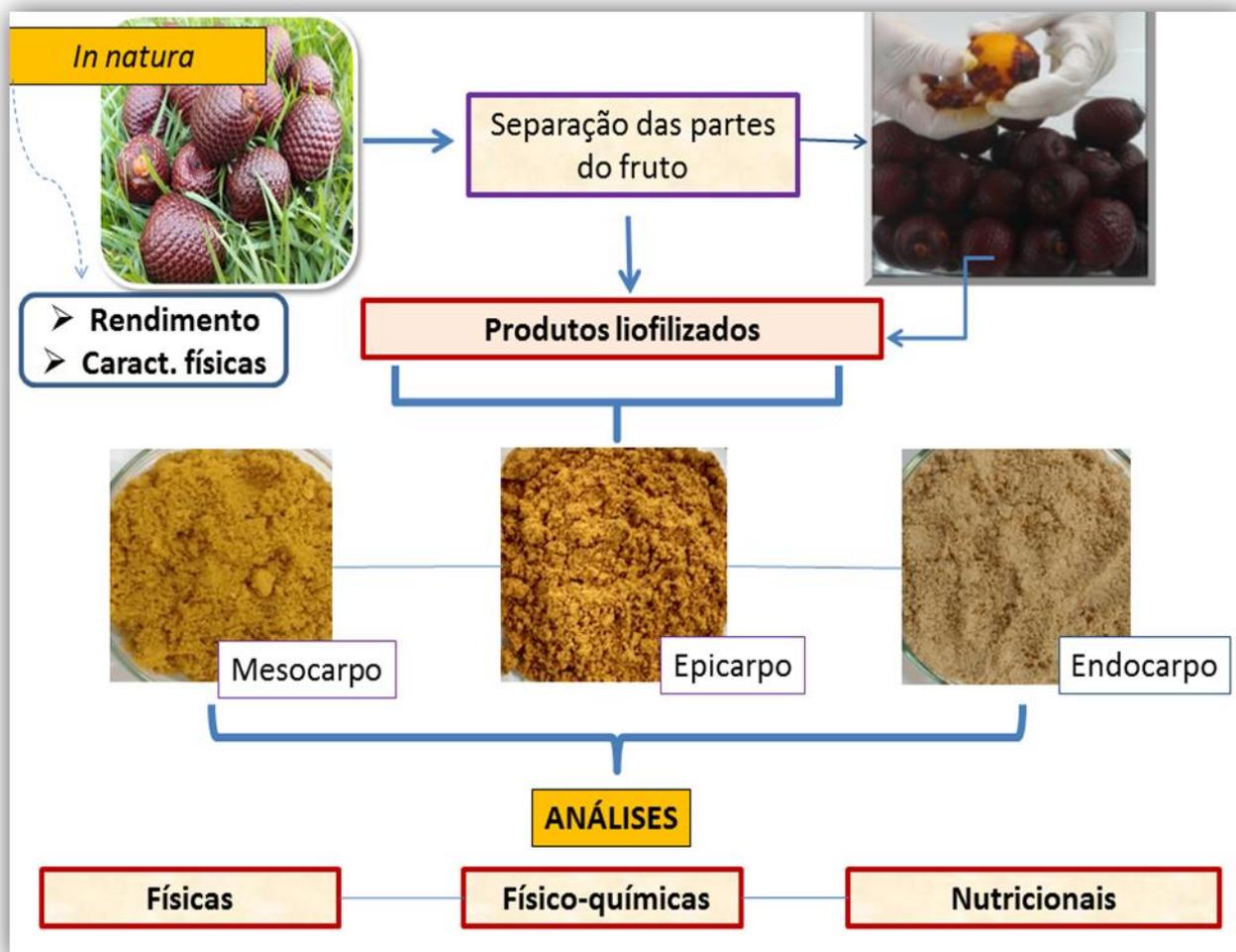
Caracterização físico-química e análises térmicas, reológicas e morfológicas de polpa e subprodutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.)



Physical-chemical characterization and thermal, rheological and morphological analyzes of pulp and by-products of buriti (*Mauritia flexuosa* L.)

Artigo submetido à revista A2: Food Chemistry

RESUMO GRÁFICO



Caracterização físico-química, análises térmicas, reológicas e morfológicas da polpa e subprodutos do fruto de *Mauritia flexuosa*

RESUMO

O buriti é um fruto nativo da região amazônica e cerrado brasileiro, com características nutricionais e organolépticas relevantes em sua polpa. Entretanto, para o consumo alimentar e diversas outras aplicações biotecnológicas, seus subprodutos ainda são pouco explorados. O objetivo deste trabalho foi avaliar o valor nutricional da polpa, casca e endocarpo de buriti após a liofilização. Foram determinados parâmetros físicos e de rendimento, a caracterização centesimal e composição físico-química (pH, acidez titulável total (ATT), atividade de água (Aw), Brix°, carboidratos, proteínas totais, lipídios totais, cinzas, umidade e fibra alimentar dietética (FAD)). O perfil mineral foi determinado por Espectrometria de fluorescência de raio X (EDX-720, Japão) e o teor de ácidos graxos e fitosteróis foi quantificado por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/ES). Parâmetros morfológicos foram avaliados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), assim como análises termogravimétricas (Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC e Difração de raio-X (DRx)) e propriedades reológicas na polpa *in natura* (PN) e liofilizada (PL), bem como na casca (CL) e endocarpo liofilizados (EL). A polpa e os demais subprodutos do buriti apresentaram bom rendimento (acima de 17,31%), entretanto, após a liofilização, a casca e o endocarpo do fruto de buriti obtiveram maiores percentuais de rendimento, 26,0% e 20,7%, respectivamente. Além disso, foi observado redução da Aw nos produtos liofilizados, fato esperado após o processo de desidratação. As amostras pesquisadas são ricas em carboidratos (entre 15,13 e 77,53%), lipídios (entre 11,54 e 51,67%) e fibras totais (entre 28,14 e 50,52%). As amostras mostraram perfil semicristalino em MEV, DSC e DRx. O pó da casca apresentou um evento endotérmico com temperatura de pico de 87,3 °C referente à evaporação da água residual presente na amostra. Este evento não foi observado nos demais pós do fruto em questão. Além disso, a polpa, casca e endocarpo de buriti são fontes de FAD, no entanto, a casca apresentou maior percentual de fibra (50,52%), dos quais 49,97% são insolúveis. E a polpa apresentou maior valor de fibras solúveis (10,64%) comparado-a aos demais subprodutos analisados ($p < 0,05$). Todas as amostras de buriti analisadas são consideradas fontes de potássio e cálcio, e de ácidos graxos monoinsaturados como o ácido oleico (entre 68,16 e 80,11%). Contudo, a casca do buriti além de apresentar 2,11% de ácidos graxos poli-insaturados, foi a única fração a conter fitosteróis (1,74 mg/g), especialmente o estigmasterol e β -sitosterol. Os resultados obtidos mostram que a polpa e subprodutos do fruto de buriti podem ser considerados fontes de fibras dietéticas solúveis e insolúveis, uma vez que 30g de qualquer dessas amostras atende a mais de 15% das *Dietary Reference Intake* (DRI). Outro destaque é para o teor de minerais e ácido oléico em todas as amostras, indicando que o fruto deve ser utilizado de forma integral no processamento industrial, assim como em P&D de diversas áreas da biotecnologia, em virtude do excelente valor nutricional e potencial funcional.

Palavras-chave: ácidos graxos, endocarpo, fitoesteróis, minerais, epicarpo.

Physicochemical, thermal analyses, rheology and morphologic characterization of *Mauritia flexuosa* pulp and its by-products

Joilane Alves Pereira Freire*, Jailane de Souza Aquino¹, Ana Regina Nascimento Campos², Vicente Galber Freitas Viana³, Joaquim Soares da Costa Júnior⁴, Arkellau Kenned Silva Moura⁵, Antônia Maria das Graças Lopes Citó⁶, Regilda Saraiva dos Reis Moreira Araújo⁷, Karoline de Macêdo Gonçalves Frota⁸, Paulo Michel Pinheiro Ferreira⁹

Short title: Mineral profile and quantification of fatty acids of buriti fruit

¹ Federal University of Paraíba, Department of Nutrition, Campus I, Castelo Branco, Cep: 58051-900. João Pessoa, Paraíba, Brazil; Email: lalaquino@hotmail.com

²Federal University of Campina Grande, Department of Chemistry Campus Cuité, Olho d'água da Bica, Cep: 58175-000. Cuité, Paraíba, Brazil; Email: arncampos@yahoo.com.br

³ Federal Institute of Piauí, Department of Chemistry, Campus Central, Praça da Liberdade, CEP: Teresina, Piauí, Brazil; Email: gauber@ifpi.edu.br

⁴Federal Institute of Piauí, Department of Chemistry, Campus Central, Praça da Liberdade, CEP: Teresina, Piauí, Brazil; Email: jquimjr@gmail.com

⁵Federal University of Piauí, Department of Chemistry, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil; email: arkellaukenned@gmail.com

⁶ Federal University of Piauí, Department of Chemistry, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil; Email: gracacito@gmail.com

⁷ University Federal of Piauí, Department of Nutrition, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil; Email: regilda@ufpi.edu.br

⁸ University Federal of Piauí, Department of Nutrition, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil; Email: karolfrota@ufpi.edu.br

⁹University Federal of Piauí, Department of Biophysics and Physiology, Campus Ministro Petrônio Portela, CEP: 64049-550, Teresina – PI, Brazil. Email: pmifepe@yahoo.com.br

***Correspondent author:** Federal University of Piauí, Department of Nutrition, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, Picos, Piauí, Brazil. CEP: 64.640-000.

Email: joilane@hotmail.com

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Physicochemical, thermal analyses, rheology and morphologic characterization of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) pulp and its by-products

Abstract

Buriti is a fruit originally from the Amazon region and the Brazilian cerrado with relevant nutritional and organoleptic characteristics present in its pulp. However, little attention has been given to the fruit intake and its biotechnological applications and its by-products. The goal of this work is to evaluate the nutritional value of buriti pulp, peel, and endocarp after lyophilization. We determined physical and output parameters, the centesimal characterization and its physicochemical composition (pH, total titratable acidity – ATT, water activity – Aw, Brix value, carbohydrates, total protein, total lipids, ashes, humidity, and dietary fiber – FAD). The mineral profile was determined by X-ray fluorescence spectrometry (EDX-720, Japan), while the fatty acids and phytosterols were quantified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). We evaluated (i) the morphological parameters by Scanning Electron Microscopy - SEM, (ii) the thermogravimetric analysis by Differential Scanning Calorimetry – DSC and X-ray Diffraction – DRx, and (iii) the rheologic properties of the pulp both *in natura* (PN) and lyophilized (PL), as well as the peel (CL) and the endocarp lyophilized (EL). The pulp and other buriti by-products showed good output (over 17.31%), however, after the lyophilization, the buriti peel and endocarp had higher output percentage, 26% and 20.7%, respectively. Furthermore, we observed Aw reduction in the lyophilized products, which was expected due the dehydration process. The used sampler was rich in carbohydrates (between 15.13% and 77.53%), lipids (between 11.54% and 51.67%), and total fibers (between 28.14% and 50.52%) The samples showed semi-crystalline profile in SEM, DSC, and DRx. The peel powder showed endothermic event with peak temperature at 87.3 °C regarding the evaporation of the residual water in the sample. Such event was not observed in the remaining powders of the used fruit. Besides that, although buriti pulp, peel, and endocarp are sources of FAD, the peel showed higher fiber percentage (50.52%), from which 49.97% are insoluble. The pulp showed higher values of soluble fibers (10.64%) when compared against the other analyzed by-products ($p < 0.05$). All buriti samples analyzed are considered sources of potassium, calcium, and oily acids monounsaturated, such as the oleic acid (between 68.16% and 80.11%). However, besides the buriti pulp show 2.11% of polyunsaturated oily acid, it was the only fraction that had phytosterols (1.74 mg/g), specially the stigmasterol and β -sitosterol. The results show that both the pulp and by-products of the buriti fruit can be considered sources of soluble and insoluble dietary fibers, since 30g of any of these samples covers more than 15% of the Dietary Reference Intake (DRI). It is also worth notice, the amount of minerals and oleic acid in all samples, which indicated that the fruit should be used in its integral form in the industrial processing, as well as in different areas of biotechnological R&D due to its excellent nutritional and functional potential.

Keywords: oleic acids, endocarp, phytosterols, minerals, epicarp.

1 INTRODUÇÃO

O buritizeiro (*Mauritia flexuosa*) pertence ao bioma da Amazônia e do Cerrado brasileiro (MILANEZ et al., 2016) (**Figura 1**). O processamento do fruto de buriti demonstra ser importante para ampliar sua produção e comercialização, visto que o produto *in natura* apresenta limitações, principalmente devido às características físico-químicas relacionadas à elevada taxa de perda de água e suscetibilidade a injúrias quando armazenado em ambiente refrigerado (FUJITA et al., 2014).

Figura 1 - Visão geral da palmeira de buriti. Região de buritizais em Valença, Piauí.



Fonte: Arquivo pessoal.

Nas regiões produtoras, a polpa ou mesocarpo do fruto do buriti é predominantemente utilizado para o preparo de biscoitos (AQUINO et al., 2016; BECKER et al., 2014), doces, sucos e sorvetes (CANDIDO et al., 2015), bem como para a extração de óleo (ZANATTA et al., 2010; AQUINO et al., 2012; SILVA et al., 2016). Contudo, não há estimativas confiáveis do volume comercializado desse fruto e de seus subprodutos em todo o país, tendo em vista que a produção ocorre em baixa escala e de forma artesanal, apesar destes frutos apresentarem grande potencial biotecnológico e econômico (ZANATTA et al., 2010; AQUINO et al., 2015, 2016; CORDEIRO et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

A polpa e o óleo extraído dessa parte do fruto de buriti tem sido objeto de alguns estudos em função de seu valor nutricional e sensorial, sendo inclusive considerado um alimento funcional devido ao seu conteúdo de compostos bioativos como: carotenoides, tocoferóis, compostos fenólicos e sua alta capacidade antioxidante (DEMBITSKY et al., 2011; AQUINO et al., 2015; MEDEIROS et al., 2015, ROMERO et al., 2015; MILANEZ et al., 2016; AQUINO et al., 2016). Tais características nutricionais podem contribuir no contexto da saúde pública, devido à diversidade de propriedades farmacológicas e medicinais apresentadas como antitumoral (SIQUEIRA et al., 2014), hipoglicemiante (BATAGLION et al., 2014), antimicrobiana (KOOLEN et al., 2013), cicatrizante (BATISTA et al., 2012) e antioxidante mediante prevenção da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e enfermidades cardiovasculares (CASE et al., 2007). Ademais, os compostos bioativos presentes no fruto *Mauritia flexuosa*, tem despertado interesse na indústria de cosméticos, biocombustíveis e nanotecnologia (ZANATTA et al., 2010; CÂNDIDO et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Considerando tais aspectos, as análises térmicas e estruturais e a caracterização físico-química e nutricional da polpa e dos subprodutos do processamento do fruto do buriti, como a casca e o endocarpo, é fundamental para apoiar a investigação científica e a busca de novos produtos a serem utilizados na área de biotecnologia sustentável, e o presente estudo caracteriza o fruto e os subprodutos liofilizados do buriti de modo detalhado, a fim de apoiar a utilização integral do fruto utilizando técnicas de processamento e conservação, com a finalidade de prolongar a vida de prateleira, preservar características nutricionais e proporcionar sua aplicação e comercialização de forma mais abrangente, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros nutricionais, as características físico-químicas e realizar análises térmicas e morfológicas da polpa, casca e endocarpo de buriti após a liofilização.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostra

Foram coletados 300 frutos de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) na cidade de Água Branca, município do estado do Piauí, Brasil, com latitude: 5°54' 50,5" 8 e longitude: 42° 38' 03,4". O período de coleta foi o mês de dezembro de 2014. A exsicata de N° 30567 foi depositada no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), referente à *M. flexuosa* L. Os frutos foram selecionados quanto à sanidade e

um mesmo estágio de maturação e em seguida, higienizados em água contendo 25 ppm de hipoclorito de sódio comercial. Posteriormente, foi realizado o processo de despolpa e separação das partes do fruto, obtendo-se a polpa ou mesocarpo, casca ou epicarpo e o endocarpo (**Figura 2**).

Figura 2 - Fluxograma do processo de obtenção das amostras liofilizadas.



Fonte: Autoria própria.

Parte da polpa obtida foi analisada *in natura* (PN) e parte foi destinada à liofilização (PL). As outras amostras, casca (CL) e o endocarpo (EL), foram liofilizados e analisados somente após esse processo. Para o processo de liofilização, as diferentes partes do buriti foram congeladas separadamente em ultrafreezer, na temperatura de -70 °C para em seguida, serem depositadas em bandeja de aço inoxidável do liofilizador modelo L101 (Liotop, São Carlos, Brasil) (**Figura 2 e 3**), que foi hermeticamente fechado e acionado o sistema de congelamento e todas as amostras foram liofilizadas em temperatura de -40 °C e pressão 500 mmHg por 72 h.

As amostras liofilizadas foram acondicionadas em embalagens plásticas e sob refrigeração, para em seguida serem processadas (pulverização) em moinho de rotor tipo ciclone (TE-651/2-TECNAL) até a obtenção de um pó homogêneo (0,5 mesh).

Figura 3 - Liofilizador utilizado para a desidratação a frio das amostras de buriti.



Fonte: Arquivo pessoal.

2.2 Caracterização física e rendimento dos frutos

O percentual do rendimento antes da liofilização (R1) das amostras foram obtidas pela relação com o peso total do fruto (PTF). A caracterização física dos frutos foi realizada mediante as determinações do peso (g) médio em balança semianalítica e aferição do diâmetro longitudinal – DL (mm) e transversal – DT (mm) com auxílio de paquímetro digital com capacidade de 0 a 150 mm e resolução 0,01 mm (Digmess, São Paulo, Brasil).

Também foi realizado a avaliação percentual das partes do fruto: polpa, casca, endocarpo e caroço. Para tanto, foi utilizado 10% da amostra, 30 unidades (PTF = 1460g), com os frutos ainda frescos, a fim de obter as mensurações físicas como: o peso médio do fruto (PMF), DL (mm), DT (mm) e a relação DL/DT. Para calcular o rendimento das amostras após liofilização (R2), obteve-se o peso inicial (P_i) das amostras *in natura* e subtraiu-se pelo peso final (P_f) obtido após a liofilização e a trituração (**Figura 4**). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

Figura 4 - Fruto e subprodutos de buriti, antes e após a liofilização



Fonte: Arquivo pessoal.

2.3 Caracterização físico-química e determinação da composição centesimal da polpa e subprodutos em pó.

O pó obtido a partir da trituração da polpa, casca e endocarpo de buriti foi caracterizado físico-quimicamente a partir das análises de atividade de água (A_w), pH, acidez total titulável (ATT) e Brix^o, de acordo com métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012), e todas as análises foram realizadas em triplicatas. Quanto à composição centesimal, as medidas realizadas foram teor de umidade, cinzas, teor proteico, de lipídeos, análise de fibra dietética total e frações solúveis e insolúveis.

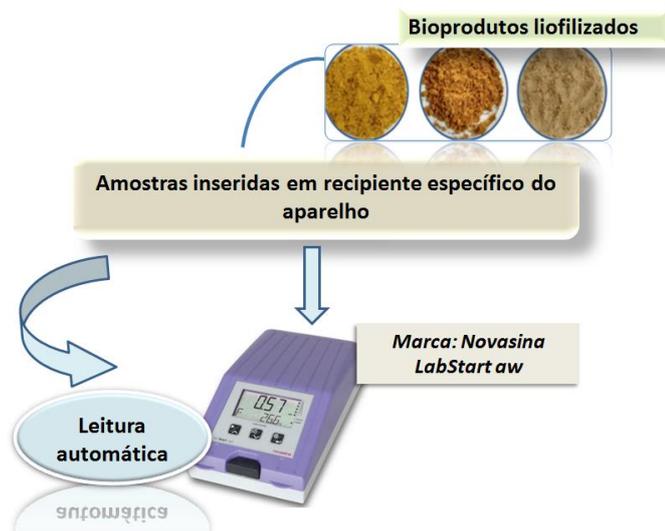
2.3.1 Atividade de Água (A_w)

A atividade de água foi medida por intermédio de analisador de atividade de água (marca Novasina, Aqualab, São José dos Campos, Brasil), com capacidade de identificar a água livre disponível para o metabolismo de microrganismos. Este aparelho aplica o princípio do ponto de orvalho, onde a água é condensada em superfície espelhada e fria, e detectada por sensor infravermelho. As amostras foram

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

colocadas em vasilhames de plástico apropriados para inserir no equipamento e determinar a umidade relativa ao transcorrer o tempo necessário para o equilíbrio da mesma (**Figura 5**).

Figura 5 - Fluxograma de análise de Aw das amostras de buriti.



Fonte: autoria própria

2.3.2 pH

Foram adicionados 100 mL de água destilada a 10g do pó de polpa, casca e endocarpo de buriti. Após a completa homogeneização e filtração em papel de filtro qualitativo, a amostra teve seu pH medido em potenciômetro de bancada (Modelo EEQ9002G-2, A. Científica, Santo André, Brasil) (**Figura 6**).

Figura 6 - Fluxograma de análise de pH das amostras de buriti.



Fonte: Autoria própria.

2.3.3 Acidez titulável total (ATT)

As soluções obtidas para análise de pH foram transferidas para erlenmeyers de 250mL. A acidez foi então determinada por intermédio da titulação dessas soluções, com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M e utilizando solução de fenolftaleína 1% como o indicador (**Figura 7**). A acidez foi expressa em gramas de ácido cítrico por 100g de produto.

Figura 7 - Fluxograma da análise de ATT em amostras de buriti.



Fonte: autoria própria

2.3.4 Índice de refração (grau Brix^o)

A escala Brix é utilizada na indústria de alimentos para medir a concentração de açúcares em produtos alimentícios. Assim, um grau Brix (1°Bx) é igual a 1g de açúcar por 100g de solução, ou 1% de açúcar. Para a determinação da concentração de açúcares das amostras de buriti, utilizou-se refratômetro (DR500, Nova Instruments, Piracicaba, Brasil) (**Figura 8**).

O fundamento da refratometria utilizada nessa tese é bem simples, pois considera que quando uma luz penetra num líquido ela muda de direção (refração) e o ângulo de refração, medido em graus, indica a mudança de direção do feixe de luz, de

modo que um refratômetro obtém e transforma os ângulos de refração em valores de índices de refração (nD). Esse refratômetro é um instrumento que pode ser usado para medir concentrações de soluções aquosas, consumindo apenas umas poucas gotas da solução; sua aplicação estende-se pelas áreas de alimentos, agricultura à química.

Figura 8 - Fluxograma da análise do grau Brix^o em amostras de buriti.



Fonte: autoria própria.

2.3.5 Umidade

A determinação da umidade das amostras foi realizada mediante método gravimétrico, até peso constante (AOAC, 2012). As cápsulas de porcelana foram taradas, colocando-as por 1 h na estufa a 105°C e em seguida, foram resfriadas em dessecador (aprox.30 min) até a temperatura ambiente. Depois de tarada foram pesados novamente (cápsula vazia) e o valor foi anotado para cálculos posteriores. Em seguida, foram pesados cerca de 2g de amostra e transferidos para cadinho previamente calibrado e seco. Essas amostras foram aquecidas em estufa (marca Quimis) à 105°C durante 24 h, em seguida foram resfriadas em dessecador (aprox.30 min) até a temperatura ambiente. Depois foram pesadas a porcelana + amostra, e os valores anotados em planilha para cálculos posteriores, expressos em porcentagem (%), de acordo com a fórmula a seguir:

$$\% U = \frac{100 \times N}{P}$$

N = n° de gramas de umidade (peso que restou da amostra depois de 24h)

P = n° de gramas da amostra.

2.3.6 Cinzas

Para determinação do teor de cinzas procedeu-se com a identificação com um lápis na parte inferior dos cadinhos, em seguida esses recipientes de porcelana foram tarados e colocados em mufla a 550 °C por 1h. Em seguida, foram resfriados em dessecador (aprox. 30 min) até a temperatura ambiente. Os cadinhos secos foram pesados, anotando-se o peso, em seguida, pesou-se 3g da amostra no cadinho, que foram carbonizados a uma temperatura de 250 °C (por aprox. 4h) para não haver perda da amostra. Após 4h, a temperatura da mufla foi elevada de 50 °C em 50 °C até chegar 550 °C. Ao chegar a 550 °C, a amostra ficou incinerando por 24h, até eliminação completa do carvão (as cinzas ficam brancas ou ligeiramente acinzentadas). Após as 24h, os cadinhos foram resfriados em dessecador (aproximadamente 30min) até a temperatura ambiente, pesados e o valor anotado em planilha para cálculos posteriores.

$$\text{Teor de cinzas (\%)} = \frac{100 \times N}{P}$$

N = n° de gramas de cinzas

P = n° de gramas da amostra

2.3.7 Teor protéico pelo método de *Kjeldahl*

A concentração de proteína bruta das amostras de buriti foi determinada através do método de *Kjeldahl*. Para a solução digestora foram utilizados solução de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) (5 mL) acrescida de 2g de mistura catalítica (sulfato de potássio 96% e 4% de sulfato de cobre). Após a digestão, as amostras foram alcalinizadas mediante adição de solução de hidróxido de sódio a 50% e destiladas em equipamento específico (marca TECNAL). Frascos *erlenmeyer* contendo ácido bórico receberam a solução destilada, que foi titulada com solução de ácido clorídrico 0,1M até a mudança de coloração para amarela, o valor gasto até o ponto de viragem deve ser anotado e o teor protéico foi calculado utilizando fórmula a seguir:

$$\text{Proteína} = \frac{V \times 0,14 \times f}{g}$$

Onde: V = mL de NaOH gasto na titulação;

F = fator de conversão de nitrogênio (6,25);

g = gramas de amostra utilizada

2.3.8 Lipídeos totais

O teor lipídico foi determinado por extração direta em *Soxhlet* e o solvente utilizado para a extração foi o hexano PA, durante um período de 6 h, conforme a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012).

2.3.9 Fibras totais e frações

Fibra dietética total (FDT), fibras solúveis (FS) e fibras insolúveis (FI) foram analisadas por método gravimétrico enzimático (PROSKY et al., 1992).

2.3.10 Carboidratos

O teor de carboidratos totais foi obtido pela diferença entre o total da amostra (100%) e a soma da FDT, cinzas, umidade, lipídeos totais e proteínas, segundo a AOAC (2012).

2.3.11 Valor Energético Total (VET)

O VET foi calculado tendo como base os fatores de conversão para proteína (4 Kcal/g), lipídio (9 Kcal/g) e carboidratos (4 Kcal/g), e expressos em quilocalorias (Kcal/100g) da amostra (MERRIL, WATT, 1973) usando a seguinte fórmula:

$$\text{Kcal} = \{[4 \times \text{g proteína}] + [4 \times \text{g de carboidratos (carboidratos totais – fibra alimentar)}] + [9 \times \text{g lipídeos}] + [7 \times \text{g etanol}]\}.$$

2.4 Perfil de minerais

A análise de composição mineral da polpa, casca e endocarpo do buriti foi realizada através de espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva, utilizando aparelho *Energy Dispersive X-ray Spectrometer* – EDX (EDX-720, Japão). Para tanto, as diferentes partes do fruto foram colocadas em portas-amostra próprios do aparelho lacradas em ambas as extremidades com filmes finos de polipropileno e abertas em uma das extremidades para evitar extrusão de amostras ao acionar o vácuo, para então serem analisadas em aparelho EDX (TAVARES et al., 2015).

2.5 Quantificação de ácidos graxos e fitoesteróis por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

2.5.1 Extração lipídica para perfil de ácidos graxos

A extração de lipídeos das amostras de polpa, casca e endocarpo do buriti para as análises do perfil de ácidos graxos foi realizada utilizando o método Bligh, Dyer (1959). Esse método utiliza a mistura de três solventes: clorofórmio, metanol e água. A amostra é misturada com o metanol e clorofórmio, que estavam numa proporção formando uma só fase com a amostra. Em seguida, adiciona-se mais clorofórmio e água, promovendo a formação de duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo lipídeos, e outra de metanol mais água, contendo substâncias não-lipídicas. A fase do clorofórmio com a gordura foi isolada e, rotoevaporada para total evaporação do clorofórmio. Em seguida, foi levada ao Laboratório de Geoquímica Organica da UFPI (LAGO) para análise do perfil de ácidos graxos por CG-MS.

2.5.2 Obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das amostras PN, PL, CL e EL foi determinado a partir da esterificação do extrato lipídico para obtenção de ésteres metílicos (HARTMAN; LAGO, 1973), para realizar a quantificação dos ácidos graxos e fitosteróis em cromatografia a gás Shimadzu GC-17A/MS-QP5050A (Kyoto, Japão). A separação cromatográfica foi realizada através de coluna cromatográfica capilar Rxi-5HT, 30 m x 0,25 mm, com a seguinte programação de temperatura para o forno: temperatura inicial de 70 °C (mantidos por 2 min.), seguida por uma rampa de aquecimento de 6°C min.⁻¹ até a temperatura final de 310°C (mantidos por 10 min.). O espectrômetro de massas do tipo quadrupolo foi operado no modo 'scan' no intervalo de massas de 47 – 600 Da. A fonte de íons estava configurada para operação no modo ionização por elétrons (EI) a 70 eV. O tempo total de 'scan' para a corrida cromatográfica foi de 52min, incluindo 3 min de *solvent delay*. Os ácidos graxos e fitosteróis foram identificados por comparação por meio de grupos de retenção e perfis de fragmentação de massa e usando padrão Sigma-Aldrich. Os resultados foram expressos em percentagem relativa de cada ácido graxo e de cada fitosterol, a partir de uma fração total.

2.6 Características térmicas, morfológicas e reológicas

2.6.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em um módulo calorimétrico exploratório diferencial DSC 910 (TA - Instruments) (tipo fluxo de calor), acoplado a um analisador térmico TA2000 (TA - Instruments). Nos ensaios, utilizou-se suporte de amostra de alumínio, atmosfera de nitrogênio.

O equipamento foi previamente calibrado para temperatura utilizando como padrões os pontos de fusão de índio (156,4 °C) e zinco (419,5 °C) metálicos, com pureza de 99,99%. A calibração para energia foi feita com base na entalpia de fusão do índio metálico, $\Delta H_{fus} = 28,5 \text{ Jg}^{-1}$. Foram calculados os fatores de correção conforme procedimento e especificação do fabricante. Para demonstração da influência dos diferentes parâmetros, foi utilizada massa de cada amostra no valor de 5,0 mg, aquecida sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min⁻¹), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ para cada amostra do fruto de buriti.

2.6.2 Difração de raio-X (DRX)

Os difratogramas de raios X das amostra em pó prensados em porta amostras de alumínio, foram obtidos à temperatura ambiente. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulos de difração 2θ variando de 5 a 80° numa velocidade 2 °C/mim⁻¹ com voltagem de 40 kV e corrente 45 mA. As análises foram realizadas em um difratômetro da marca PANalytical, modelo EMPYREAN SÉRIE 2, equipado com tubo de cobalto com $\lambda = 1,78 \text{ nm}$ e monocromador secundário para cobalto (Co). Esta análise foi aplicada ao produtos em pó de polpa, casca e endocarpo de buriti após liofilização.

2.6.3 Microscopia eletrônica de varredura

O estudo da microestrutura e avaliação da morfologia e superfície dos pós de polpa, casca e endocarpo de buriti foram realizados em Microscópio eletrônico de varredura (MEV) *Shimadzu SSX-550 Superscan*. Os pós foram fixados em suporte metálico sob vácuo com posterior metalização de uma fina película de ouro. As microfotografias de MEV foram obtidas em diferentes magnificações utilizando voltagens de aceleração de 8 a 15 kV. A placa metálica foi recoberta com platina em metalizadora da marca Emitech, modelo K 550, operando a 5m e 10 kV, fornecendo uma cobertura de aproximadamente 25 μm . As imagens foram capturadas e digitalizadas.

2.6.4 Propriedades reológicas

O comportamento reológico da polpa, casca e endocarpo em pó de buriti foi determinado através de um reômetro rotacional de cilindros concêntricos tipo *Searle* da *Brookfield*, modelo R/S plus SST 2000. As medidas foram feitas na temperatura de 25 °C, a qual foi ajustada através de um banho termostático acoplado ao equipamento.

O equipamento forneceu os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação através do *software* RHEO V 2.8. As análises reológicas foram obtidas com variação da taxa de deformação de 0 a 500 s⁻¹ (curva ascendente) e de 500 a 0 s⁻¹ (curva descendente), com um tempo de 1 minuto e leitura de 25 pontos para cada curva. As leituras foram feitas em triplicata e em cada medida foi utilizada uma nova amostra. Foram traçadas as curvas da viscosidade aparente das amostras em função das taxas de deformação utilizando-se os dados experimentais de viscosidade e valores teóricos calculados a partir do melhor modelo (*Ostwald-de-Waelle*), equação:

$$\tau = K(\dot{\gamma})^n$$

Onde: τ = tensão de cisalhamento (Pa), K = índice de consistência (Pa.s), n = índice de comportamento (adimensional), $\dot{\gamma}$ = Taxa de deformação (s⁻¹).

2.7 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância – ANOVA e pós teste de Tukey, a 5% de nível de significância ($p < 0,05$), utilizando o *software* SPSS (SPSS INC. 14.0 for *Windows Evaluation Version*). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características físicas e rendimento do fruto *in natura* e liofilizado

Os coeficientes de variação revelaram baixa uniformidade dos frutos quanto aos parâmetros analisados (**Tabela 1**), tendo em vista que no Brasil não existe um cultivo planejado dos frutos, como ocorre em outros países da América do Sul (BROKAMP et al., 2011).

Apesar dos frutos do buriti avaliados no presente trabalho apresentarem maior peso médio, o peso e conseqüentemente o rendimento da polpa e da semente foram inferiores aos quantificados por Milanez et al. (2016), de 43,4% e 56,6%, respectivamente. Tais resultados indicam que o desenvolvimento do fruto é fortemente influenciado por fatores ambientais como temperatura, radiação solar, precipitação de chuvas, entre outros (MILANEZ et al., 2016) e que conseqüente, tais fatores interferem no percentual de rendimento do fruto fresco e processado.

Após a liofilização, a casca (22,0%) e o endocarpo em pó (20,72%) obtiveram maiores percentuais de rendimento, o que sugere potencial aplicabilidade desses dois

subprodutos resultantes do processamento do buriti em detrimento ao descarte. É importante destacar que o rendimento de polpa é um parâmetro de qualidade importante para a indústria de produtos desidratados, pois as variedades cujas frutas possuem alto rendimento de polpa, conseguem maiores rendimentos no processamento dos produtos finais (concentrados), o que pode representar possibilidade de maior lucratividade para as indústrias. De modo geral, o fruto do buriti analisado apresentou forma elipsóide-oblonga que é a forma mais comum deste fruto, em comparação com a globular-oblonga, corroborando com os resultados reportados por Lorenzi et al. (2010) e Milanez et al. (2016).

Tabela 1 - Características físicas e rendimento do buriti (*Mauritia Flexuosa*) antes e após o processo de liofilização.

Variáveis	Média ± E.P.M (g)	CV (%)	R1 (%)	R2 (%)
Peso do fruto inteiro*	48,7 ± 1,3	2,7	-	-
Peso polpa	11,0 ± 0,9	7,9	22,6	17,3
Peso da casca (epicarpo)	13,0 ± 0,6	4,5	26,7	22,0
Peso do endocarpo	8,1 ± 0,8	9,7	16,6	20,7
Peso da semente	16,6 ± 0,5	2,9	34,0	-
Diâmetro transversal (cm)	4,3 ± 0,2	5,0	-	-
Diâmetro longitudinal (cm)	5,3 ± 0,5	9,1	-	-

(*) De 300 frutos selecionados, 10% foram avaliados quanto às características físicas e rendimento. **(R1)** Rendimento in natura; **(R2)** Rendimento após liofilização e preparo das farinhas em moinho ($R2 = P_i - P_f/100$). CV = Coeficiente de variação.

3.2 Caracterização físico-química do fruto

A polpa liofilizada do buriti apresentou maior teor de nutrientes em comparação à polpa *in natura* ($p < 0,05$), fato relacionado à redução do teor de água do alimento após o processo de liofilização, tornando-o mais concentrado. A casca liofilizada demonstrou ser rica em carboidratos e o endocarpo liofilizado apresentou considerável teor de cinzas em comparação às demais amostras analisadas ($p < 0,05$) (**Tabela 2**).

Foi observado que o percentual de lipídios passou de 26,6% na polpa *in natura* para $51,7 \pm 0,1\%$ na polpa liofilizada, indicando que a polpa é fonte de lipídios, lembrando que dela se extrai o óleo de buriti considerado fonte de carotenoides, tocoferóis e ácidos graxos monoinsaturados, portanto, produto com potencial funcional (AQUINO et al., 2012b; AQUINO et al., 2015; MEDEIROS et al., 2015).

Os subprodutos do fruto pesquisado mostraram serem fontes de carboidrato. Além disso, a concentração de carboidratos geralmente aumenta em polpas de frutas

desidratadas quando comparadas com suas respectivas polpas *in natura* (FILIP et al., 2016) (Tabela 2).

Tabela 2 - Características físico-químicas da polpa e subprodutos liofilizados de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) coletados em Água Branca-PI, Brasil.

Análises/Amostras	Polpa <i>in natura</i> ^a	Polpa ^b	Casca ^c	Endocarpo ^d
^e Aw	1,0 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,0 ^c
pH	3,9 ± 0,0 ^b	4,1 ± 0,0 ^a	3,5 ± 0,0 ^d	3,7 ± 0,0 ^c
^f ATT	7,6 ± 0,2 ^b	8,1 ± 0,4 ^a	2,6 ± 0,1 ^d	4,1 ± 0,1 ^c
Brix	7,7 ± 0,1 ^a	5,8 ± 0,3 ^b	2,8 ± 0,1 ^c	1,3 ± 0,1 ^d
Umidade	54,8 ± 0,6 ^a	4,8 ± 0,2 ^b	3,3 ± 0,2 ^c	5,2 ± 0,1 ^d
Cinzas ^g (b.s./bu)	2,7 ± 0,0 ^c	2,2 ± 0,0 ^d	2,9 ± 0,2 ^b	4,6 ± 0,0 ^a
Proteínas ^g (b.s./bu)	2,5 ± 0,1 ^d	5,6 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,0 ^b	4,8 ± 0,2 ^c
Carboidratos ^g (b.s./b.u.)	15,1 ± 0,3 ^d	35,7 ± 0,5 ^c	77,5 ± 0,2 ^a	73,8 ± 0,1 ^b
Lipídeos ^g (b.s./b.u.)	26,6 ± 0,3 ^b	51,7 ± 0,1 ^a	12,1 ± 0,0 ^c	11,5 ± 0,1 ^d
Fibras totais ^g (b.s./b.u.)	38,0 ± 0,3 ^b	38,9 ± 0,6 ^b	50,5 ± 0,5 ^a	28,1 ± 0,0 ^c
Insolúveis (FI)	27,3 ± 0,4 ^b	28,8 ± 0,9 ^b	49,9 ± 1,1 ^a	24,7 ± 0,0 ^c
Solúveis (FS)	10,6 ± 0,1 ^a	10,1 ± 0,2 ^a	0,5 ± 0,0 ^c	3,5 ± 0,1 ^b
Relação FI/FS	2,6 ± 0,3 ^c	2,8 ± 0,5 ^c	90,8 ± 0,7 ^a	7,1 ± 0,0 ^b
Energia (Kcal/100g)	309,8 ± 4,2 ^d	630,3 ± 0,7 ^a	435,8 ± 0,9 ^b	418,3 ± 0,7 ^c

Médias ± desvio-padrão. Letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ^a PN = polpa *in natura*; ^b PL = Polpa liofilizada; ^c CL = casca liofilizada; ^d EL = endocarpo liofilizado; ^e Aw = Atividade de água; ^f ATT = acidez total titulável; ^g(b.s./b.u.) = base seca/base úmida da amostra.

Ademais, no presente estudo foi observado um decréscimo em torno de 25,0% dos sólidos solúveis após a liofilização, resultado justificado pela perda variável de sólidos solúveis (Brix) que é dependente do teor inicial de umidade das frutas, uma vez que o alto teor de umidade na polpa *in natura* pode facilitar a difusão de sólidos solúveis durante a desidratação e vice-versa (FERNANDES et al., 2011).

A polpa do buriti, seja liofilizada ou *in natura*, apresentou o maior percentual de fibras solúveis, enquanto a casca do buriti apresentou o maior teor de fibra insolúvel. Uma maior quantidade da fração insolúvel das fibras na casca é um indicador da presença de celulose e hemicelulose (MARTÍNEZ et al., 2012), o que pode ser considerado vantajoso porque as fibras insolúveis podem ser utilizadas pela indústria alimentar como um ingrediente para aumentar o teor de compostos insolúveis

indigeríveis adicionados em alimentos, podendo ser benéfico na melhoria de propriedades reológicas de produtos, bem como na saúde humana relacionados ao aumento da saciedade e do volume e peso da massa fecal, por promover a melhoria do funcionamento do sistema digestivo (ELLEUCH et al., 2011). Por outro lado, a presença de fibras solúveis na polpa do buriti também apresenta vantagens, uma vez que quando incorporadas a alimentos, proporcionam viscosidade, capacidade para formar géis e/ou atuam como emulsionantes, em comparação com a fibra insolúvel. Ademais o consumo de alimentos que contém fibras solúveis pode auxiliar na redução da glicemia e colesterol (MUDGIL, BARAK, 2013).

A polpa *in natura* atendeu a recomendação de Spiller (1986) na qual a proporção entre fibras insolúveis e solúveis deve estar no intervalo de 1,0 - 2,3, de modo a obter os efeitos fisiológicos no organismo associados com ambas as frações. A polpa, a casca e o endocarpo do buriti podem ser considerados fontes deste nutriente, uma vez que uma porção de 30 g de qualquer uma das amostras atende a mais de 15% das *Dietary Reference Intake* (DRI) (IOM, 2005) que preconiza o consumo de fibra alimentar total entre 21 a 38 g/dia, considerando a faixa etária, o estado fisiológico e o sexo. A polpa, a casca e o endocarpo do buriti apresentaram menor teor de fibras solúveis em comparação ao teor destas quantificados por Martínez et al. (2012) em subprodutos de outras frutas como manga (28,2%), maracujá (35,5%) e goiaba (11,1%), entretanto, a casca do buriti apresentou maior concentração de fibras insolúveis quando comparada aos subprodutos de manga (41,5%) e maracujá (46,0%).

A redução da atividade de água (A_w) foi observada nos produtos liofilizados, conforme o esperado após os processos de desidratação. A_w é considerada ótimo parâmetro para avaliar a qualidade de produtos desidratados e tem sido muito utilizada pela indústria para predizer a estabilidade dos produtos processados, diretamente relacionada ao crescimento microbológico no qual cada micro-organismo apresenta um valor ideal de A_w para o seu crescimento, visando o controle microbológico dos alimentos concentrados e semiúmidos (CORRÊA et al., 2011).

Ressalta-se que este trabalho objetivou realizar a caracterização físico-química completa do fruto do buriti, considerando-o de forma integral, o que pode ampliar os conhecimentos e aumentar as áreas de aplicação em Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P, D & I) a partir da casca e do endocarpo do fruto. Os dados científicos são escassos, em relação a frutos de espécies nativas do Brasil pertencentes à família *Arecaceae*, a exemplo do buriti (*Mauritia vinifera* Mart), da gueroba [*Syagrus oleracea*

(Martius) Beccari] e do bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.), porém estes têm despertado a atenção por suas características funcionais e nutracêuticas (LORENZI et al., 2010).

Outro ponto importante a ser discutido é que estudos realizados com os frutos do buriti demonstraram limitações quanto ao consumo *in natura* desta fruta, devido principalmente às elevadas taxas de perda de água e suscetibilidade à injúria por frio quando armazenados em ambiente refrigerado (SANTELLI et al., 2009; FUJITA et al., 2014), o que incentiva a busca pelo processamento da polpa e sua utilização na elaboração de novos produtos, e a liofilização constitui um método eficaz de preservação e conservação de nutrientes, além de prolongar a vida de prateleira dos alimentos (NAKAGAWA, OCHIAI, 2015). Contudo, o aumento do processamento da polpa de buriti deve vir associado ao aproveitamento das demais partes do fruto, bem como da caracterização química e físico-química, o que poderá subsidiar um destino sustentável dos subprodutos do buriti, do ponto de vista ambiental e nutricional.

3.3 Perfil de minerais

O endocarpo liofilizado (EL) apresentou os maiores teores de cálcio e cobre e em conjunto com a polpa liofilizada (PL) tiveram maiores teores de potássio, assim como maior teor de manganês em conjunto com a polpa *in natura*. Contudo, a casca apresentou maiores teores de fósforo, ferro e foi o único subproduto a apresentar cromo em sua composição mineral (**Tabela 3**).

De uma maneira geral, o processo de liofilização manteve os teores de minerais na polpa de buriti, todavia, foi observada uma redução, entre 18,92 % e 22,22%, dos minerais cálcio, magnésio e manganês. A liofilização preserva as propriedades originais do produto, como minerais, vitaminas, compostos bioativos, além da cor e do aroma (NAKAGAWA; OCHIAI, 2015; MARQUES et al., 2009), contudo Marques et al. (2009) relatam a redução do teor de minerais após a liofilização e após a reidratação de frutas liofilizadas.

De acordo com o IOM (1997), a Ingestão Diária Recomendada de potássio (IDR) para adultos é de 700 mg/dia e uma porção de 25g de polpa de buriti *in natura* apresenta 168,00 mg, polpa liofilizada de buriti apresenta 178 mg, da casca apresenta 148,75 mg e do endocarpo é 178,25 mg, demonstrando que as diversas amostras de buriti analisadas atendem a mais de 21,25 % das IDR para este mineral. A IDR de cálcio para adultos é de 800 mg/dia, assim, observa-se que uma porção de 25 g da polpa *in natura* de buriti atende a 4,62 % destas IDR, 25 g da polpa liofilizada de buriti atende a 3,75 % das IDR, 25 g da casca liofilizada atende a 3,16 % e do

endocarpo liofilizado atende a 4,97 % das IDR de cálcio. Em adição, uma porção da polpa in natura ou liofilizada bem como de qualquer subproduto do buriti analisado, atende a mais de 100 % das IDR do mineral manganês, o qual é considerado componente estrutural de enzimas no organismo, protegendo as membranas celulares contra processos oxidativos (KOŃCZAK; ROULLE, 2011).

Todas as amostras de polpa e subprodutos do fruto do buriti analisadas no presente estudo são consideradas fontes de potássio, mineral importante para o controle da pressão arterial e melhora da função cardiovascular (BERRY et al., 2010), no entanto, não são consideradas fontes de cálcio, mineral que apresenta funções bem descritas no metabolismo ósseo e na prevenção à osteoporose (SHARMA et al., 2010; KIM et al., 2015). Ademais, a inserção de alimentos na dieta ocidental que contenham tanto o cálcio como o potássio pode determinar efeito benéfico sobre a reabsorção óssea e até mesmo aumento da densidade óssea (KARP et al., 2009).

Tabela 3 - Composição mineral de polpa e subprodutos de buriti coletados em Água Branca-PI, Brasil.

Minerais (mg/100g)	Polpa in natura	PL*	CL*	EL*
Potássio	672,0 ± 0,4 ^b	712,0 ± 0,4 ^a	595,0 ± 0,3 ^c	713,0 ± 0,3 ^a
Cálcio	148,0 ± 0,3 ^b	120,0 ± 0,3 ^c	101,0 ± 0,4 ^d	159,0 ± 0,1 ^a
Cloro	65,0 ± 0,2 ^b	72,0 ± 0,2 ^a	53,0 ± 0,1 ^c	41,0 ± 0,3 ^d
Magnésio	50,0 ± 0,3 ^a	40,0 ± 0,2 ^b	41,0 ± 0,1 ^b	39,0 ± 0,3 ^b
Fósforo	21,0 ± 0,2 ^b	19,0 ± 0,1 ^b	26,0 ± 0,1 ^a	11,0 ± 0,1 ^c
Manganês	18,0 ± 0,2 ^a	14,0 ± 0,2 ^b	14,0 ± 0,1 ^b	18,0 ± 0,1 ^a
Enxofre	12,0 ± 0,2 ^a	12,0 ± 0,2 ^a	11,0 ± 0,1 ^a	6,0 ± 0,3 ^b
Ferro	2,0 ± 0,02 ^b	2,0 ± 0,04 ^b	19,0 ± 0,02 ^a	2,0 ± 0,03 ^b
Zinco	1,0 ± 0,01 ^b	1,0 ± 0,02 ^b	1,0 ± 0,02 ^a	1,0 ± 0,02 ^b
Cobre (µg)	0,40 ± 0,01 ^c	0,40 ± 0,01 ^c	1,0 ± 0,01 ^b	1,0 ± 0,01 ^a
Cromo (µg)	**nd	**nd	4,0 ± 0,01 ^a	**nd

Médias ± desvio-padrão. Letras diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). *PL, CL e EL = Polpa, casca e endocarpo liofilizados; respectivamente; **nd = não detectado.

A casca liofilizada do buriti foi a única amostra analisada a ser considerada fonte de ferro, atendendo a 33,93 % das IDR deste mineral que é de 14 mg/dia recomendadas para adultos. Todavia, este resultado deve ser avaliado com cautela devido a alguns fatores que podem afetar a biodisponibilidade desse mineral para o corpo humano (TANIGUCHI et al., 2017).

A casca do buriti apresentou maior teor de fósforo, ferro e cromo e menor teor de cobre e zinco quando comparada à casca de outras frutas nativas da Amazônia como o biribá (*Rollinia mucosa*), cubiu (*Solanun sessiliflorum* Dunal), sapota (*Quararibea cordata*) e umari (*Poraqueiba sericea* Tul.) (BERTO et al., 2015).

Apesar de não ser consideradas fontes dos demais minerais, a polpa *in natura* e liofilizada, bem como a casca e o endocarpo do buriti apresentam minerais importantes em sua composição requeridos para o funcionamento normal do organismo (BROADLEY, WHITE, 2010) e o consumo das amostras analisadas pode contribuir para alcançar as IDR de cada mineral.

3.4 Perfil de ácidos graxos e fitosteróis

A polpa do buriti seja *in natura* (PN) ou liofilizada (PL) apresentou o maior percentual de ácidos graxos monoinsaturados, com destaque para o ácido oleico. Contudo, a casca liofilizada (CL) apresentou maior percentual de ácidos graxos saturados e poli-insaturados, além de ser o único subproduto do buriti a apresentar fitosteróis em sua composição (**Tabela 4**).

O percentual de ácidos graxos presentes na polpa *in natura* avaliada no presente estudo foi semelhante ao quantificado por Darnet et al. (2011), apresentando 75,7% de ácido oleico, 18,9% de ácido palmítico, 2,1% de ácido linoleico, 1,7% de ácido araquidônico, 0,3% de ácido palmitoléico e 1,3% de esteárico. A proporção de ácidos graxos presentes na polpa também foi semelhante à encontrada no óleo de buriti (AQUINO et al., 2015, MEDEIROS et al., 2015), considerando que o óleo é extraído desta fração do fruto.

Nosso estudo avaliou a composição de ácidos graxos das diversas partes do fruto do buriti e os resultados ressaltam a importância da identificação e quantificação de ácidos graxos em alimentos, tendo em vista que estudos clínicos e epidemiológicos têm estabelecido que tanto a quantidade como o tipo de gordura presente nos alimentos possui influência sobre fatores de risco cardiovascular,

incluindo a concentração de lipídios e lipoproteínas plasmáticas e presença de processos inflamatórios (IGBAL 2014; LEE, PARK, 2014; TIAN et al., 2016).

Tabela 4 – Percentual médio de ácidos graxos e fitosteróis em polpa e subprodutos de buriti coletados em Água Branca-PI, Brasil.

Ácidos graxos (%)	PN ^a	PL ^b	CL ^b	EL ^b
Ácido palmítico (C16:0)	15,9	17,7	20,8	16,7
Ácido esteárico (C18:0)	4,6	1,6	2,4	1,5
Total saturados	20,6	19,3	23,2	18,2
Ácido palmitoléico (C16:1)	*nd	*nd	0,8	*nd
Ácido oléico (C18:1)	79,1	80,1	67,4	78,3
Total monoinsaturados	79,1	80,1	68,2	78,3
Ácido linoléico (C18:2)	*nd	*nd	2,1	1,7
Ácido linolênico (C18:3)	*nd	*nd	*nd	*nd
Total polinsaturados	*nd	*nd	2,1	1,7
β-sitosterol	*nd	*nd	1,4	*nd
Estigmasterol	*nd	*nd	0,4	*nd
Total de fitosteróis	*nd	*nd	1,7	*nd
TOTAL identificado	99,7	99,4	97,8	98,2

^a PN = polpa in natura; ^b PL, CL e EL = Polpa, casca e endocarpo liofilizados; respectivamente; *nd = não detectado.

Esta pesquisa também avaliou a quantificação de fitoesteróis na casca de buriti liofilizada, tais compostos são responsáveis por reduzir a absorção de colesterol no intestino em até 30% por competição devido à semelhança estrutural entre as duas moléculas, além de reduzir os níveis de LDL-colesterol sérico entre 8 e 10% se consumidos entre 1,6 - 2 g de fitoesteróis/dia (MARANGONI, POLI, 2010; PLUMB et al., 2011). Diferentemente de nosso estudo no qual não foram identificados fitosteróis na polpa do buriti, Dembitsky et al. (2011) quantificaram 2,5 mg de brasscaesterol, 16mg de campesterol, 38,5 mg de estigmasterol, 154,5 mg de β-sitosterol e sitostanol em 100g de polpa do buriti, além de 8 mg de campesterol, 6 mg de estigmasterol e 6 mg de β-sitosterol e sitostanol na semente desta fruta.

A casca de buriti liofilizada apresentou maior teor de β-sitosterol e de estigmasterol, quando comparadas às quantidades presentes em cascas liofilizadas de variedades de bananas, entre 269 a 601 mg/kg de β-sitosterol e entre 194 a 328 mg/kg de estigmasterol (VILLAVERDE et al., 2013) e em polpas de frutas exóticas como mucuja (*Couma rigida* M.) que apresenta 64,3 mg de β-sitosterol e 12 mg de estigmasterol, açaí (*E. oleracea* M) com 94 mg de β-sitosterol e 12 mg de

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

estigmasterol, inajá (*Maximiliana maripa* D.) com 79,5 mg de β -sitosterol e 7,5 mg de estigmasterol e uxi (*Endopleura uchi* C.) que apresenta 88 mg de β -sitosterol e 12 mg de estigmasterol) (DEMBITSKY et al., 2011). Porém, a casca do buriti apresentou menor concentração de β -sitosterol e estigmasterol em comparação à casca da cherimoya (*Annona cherimola*), fruta exótica nativa do Peru e Equador (GARCÍA-SALAS et al., 2016).

3.5 Características térmicas, morfológicas e reológicas

3.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (*Differential Scanning calorimetry - DSC*)

Alguns métodos termo-analíticos servem para avaliar características físicas (estabilidade, ponto de fusão, cristalização e oxidação) de produtos naturais como polpa, casca e endocarpo de buriti liofilizados e processados na forma de pó, numa tentativa de prever a vida de prateleira desses bioprodutos, ricos em óleos poli-insaturados e muitos outros nutrientes antioxidantes, visto que a deterioração oxidativa nos alimentos contendo lipídios é responsável pela formação de sabores estranhos que reduzem a qualidade sensorial e nutricional dos mesmos, além da produção de compostos químicos com implicações indesejáveis (VALERO, CARRASCO, GARCIA-GIMENO, 2012). Nas **Figuras 9 (A, B e C)** estão representados os termogramas de DSC dos pós da polpa, casca e endocarpo de buriti.

Nas últimas décadas, as técnicas termo-analíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento da química básica e aplicada. Entretanto, vale ressaltar que a avaliação da qualidade de produtos naturais, não depende apenas da composição química deste, pois também está relacionada à qualidade da matéria-prima, às condições a que foi submetido o produto durante o processamento e condições de estocagem (CAVALCANTI MATA et al., 2005). A utilização dessas metodologias, dotada de grandes potencialidades, foi favorecido pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer informações quanto ao comportamento térmico dos materiais de forma precisa e tempo relativamente curto (BERNAL et al., 2002).

O pó da casca apresentou um evento endotérmico com temperatura de pico de 87,8 °C referente à evaporação da água residual presente na amostra. Este evento não foi observado nos demais pós do fruto em questão, o que pode indicar que alguns componentes presentes na casca apresentam maior afinidade pela água sendo necessárias temperaturas maiores para sua eliminação (o que não ocorre no processo

de liofilização) ou, ainda, que o material pode ter adquirido alguma umidade após o processo de secagem. Além disso, observou-se a presença de 3 picos exotérmicos entre as temperaturas de 240 e 530 °C provavelmente relacionados à degradação dos componentes presentes na casca sendo que o pico em torno de 296 °C está presente apenas no termograma do pó da casca (**Figura 9B; Tabela 5**).

Tabela 5 - Propriedades térmicas das amostras de buriti por DSC.

Amostras/Análises	T _{inicial} (°C)	T _{pico} (°C)	T _{final} (°C)	$\Delta T(T_f - T_i)$	ΔH (J/g)
Polpa					
Pico exotérmico	307,0	331,0	341,0	33,5	0,15
	363,0	385,0	414,0	51,0	0,11
	418,0	423,0	437,0	19,0	0,02
	485,0	506,0	520,0	35,0	0,02
Casca					
Pico endotérmico	37,7	87,8	145,8	108,1	0,63
Pico exotérmico	249,0	296,2	310,9	61,9	0,12
	368,0	422,9	470,1	102,1	0,97
	488,2	510,2	526,6	38,4	0,07
Endocarpo					
Pico exotérmico	212,0	245,0	282,0	70,0	0,15
	292,0	327,0	343,9	51,9	0,52
	411,0	433,0	465,0	54,0	0,18
	483,0	506,0	531,0	48,0	0,09

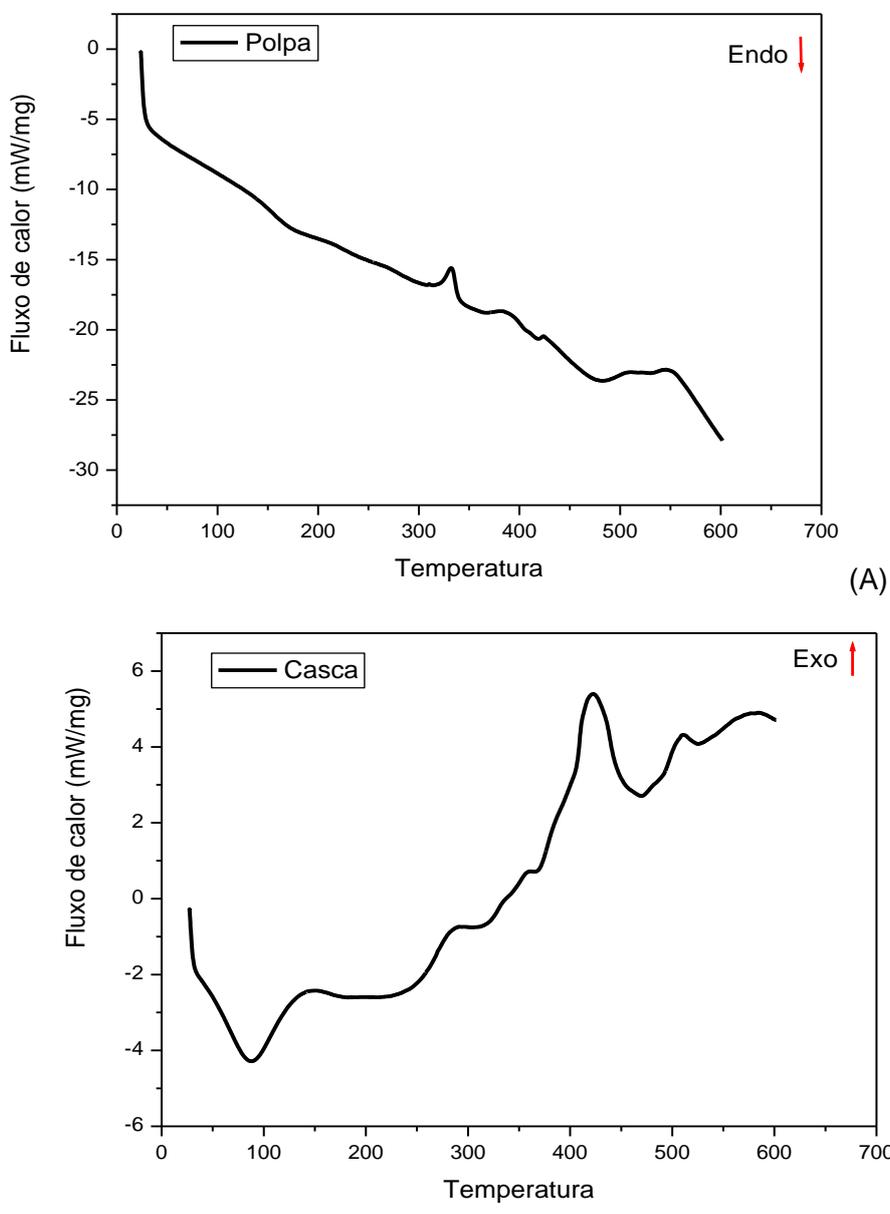
* Temperatura (T), Intervalo de reação (ΔT), Variação de entalpia (ΔH (J/g))

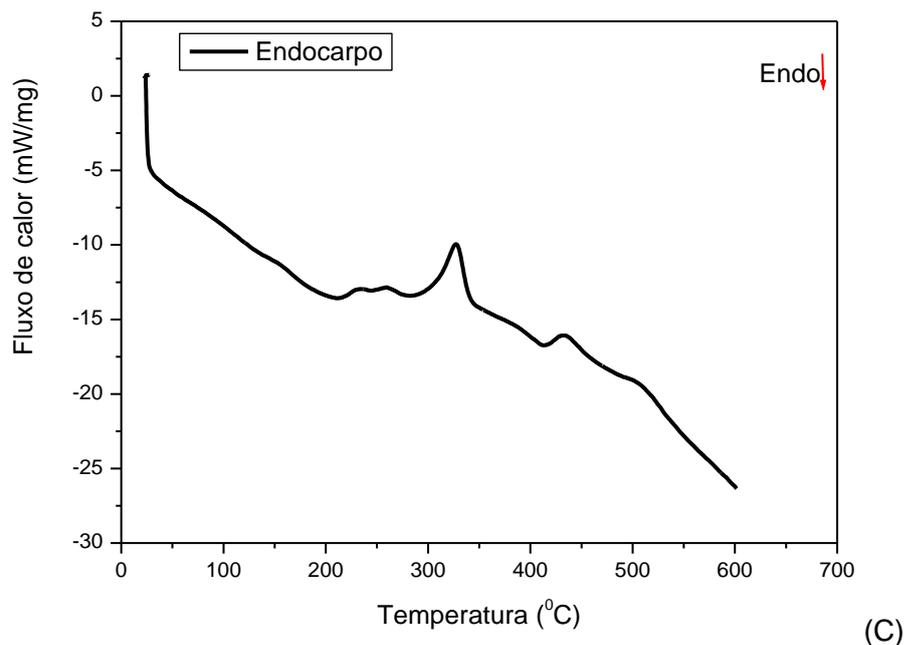
As curvas de DSC do endocarpo e da polpa são semelhantes entre si (**Figura 9**) nas quais foram observadas a presença de eventos exotérmicos de degradação a partir de 200 °C. O evento com temperatura de pico de 327 °C presente no endocarpo sofreu um deslocamento para 331 °C na polpa (**Tabela 5**) que necessitou de uma maior temperatura para iniciar o processo. Observou-se, ainda, que os eventos presentes no pó da polpa foram menos intensos que os do endocarpo o que indica que foi necessário menor energia para a degradação dos componentes encontrados no pó da polpa. Esta menor temperatura para ter seus componentes desorganizados observada na amostra de polpa liofilizada de buriti, sugere que as diferenças físico-químicas como forma e distribuição de fibras, assim como a presença de lipídios no material analisado altera o comportamento térmico.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Vale considerar que em Calorimetria Exploratória Diferencial, realiza-se a medida da variação de entalpia (ΔH) que ocorre entre a amostra e a referência durante o processo de aquecimento e/ou resfriamento. De modo que nesses experimentos, a forma, a posição e o número de picos são úteis para análise qualitativa, enquanto a área sob os mesmos é de interesse quantitativo e, portanto, torna-se importante conhecer como fatores externos podem afetar estas características para análise adequada dos resultados em DSC (BERNAL et al., 2002).

Figura 9 - Curvas DSC da polpa (a), casca (b) e endocarpo (c) de buriti, massa de amostra (5 mg). Suporte de amostra de alumínio com tampa, dinâmica de nitrogênio (50 mL min⁻¹), na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ para cada amostra do fruto de buriti.



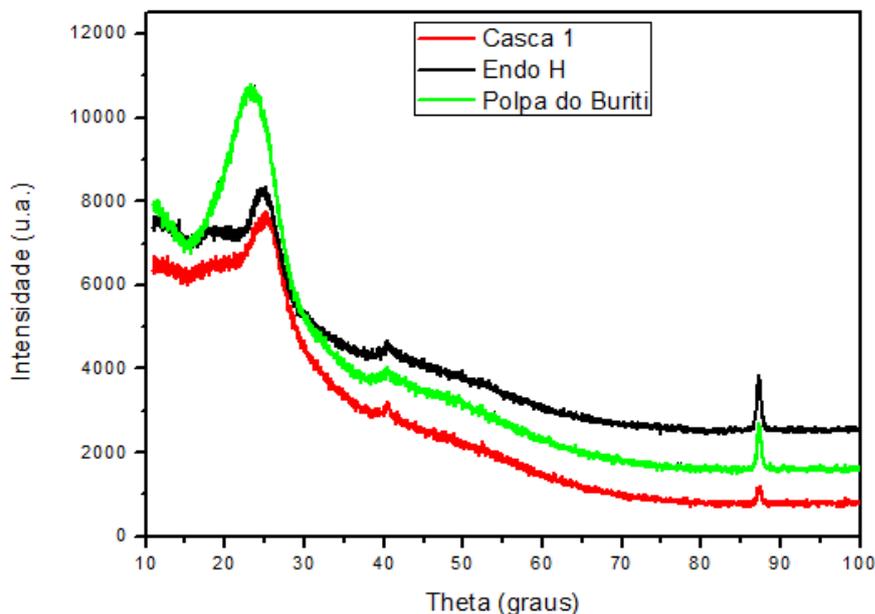


3.5.2 Difração de raios-X

Essa é uma técnica comumente realizada para avaliar e confirmar a estrutura cristalina ou amorfa de produtos na forma de pó, sejam eles inorgânicos ou orgânicos e de forma geral, o material cristalino mostra uma série de picos agudos, enquanto que um produto amorfo produz um amplo padrão de fundo, com estrutura sem ordem a longo alcance, onde os picos não são bem definidos. Essa técnica é baseada na difração de radiação eletromagnética de comprimentos de onda na ordem de 10^{-10} a 10^{-12} m, por materiais cristalinos ou policristalinos, utilizada para caracterizar materiais na forma de pós, filmes finos e amostras espessas (CHERIEGATE, 2012).

Diante disso, foi observado na **Figura 10** os difratogramas dos pós de polpa, casca e endocarpo de buriti, obtido pelo mesmo processo de secagem, a liofilização, e revelaram que o processo de secagem gerou pós semi-cristalinos, tal fenômeno pode ser observado nessas amostras em virtude da presença de picos mais largos e de maior intensidade localizados em torno dos ângulos de difração (2θ) 15 a 25° e um estreito de menor intensidade (próximo de 90°). Este resultado reforçou o que foi obtido na análise de microscopia de varredura eletrônica (MEV), na qual se visualizou estruturas pouco amorfas nos pós obtidos por liofilização (**Figura 11**).

Figura 10 – Ilustração de difratogramas de polpa, casca e endocarpo de buriti, obtido pelo processo de liofilização.



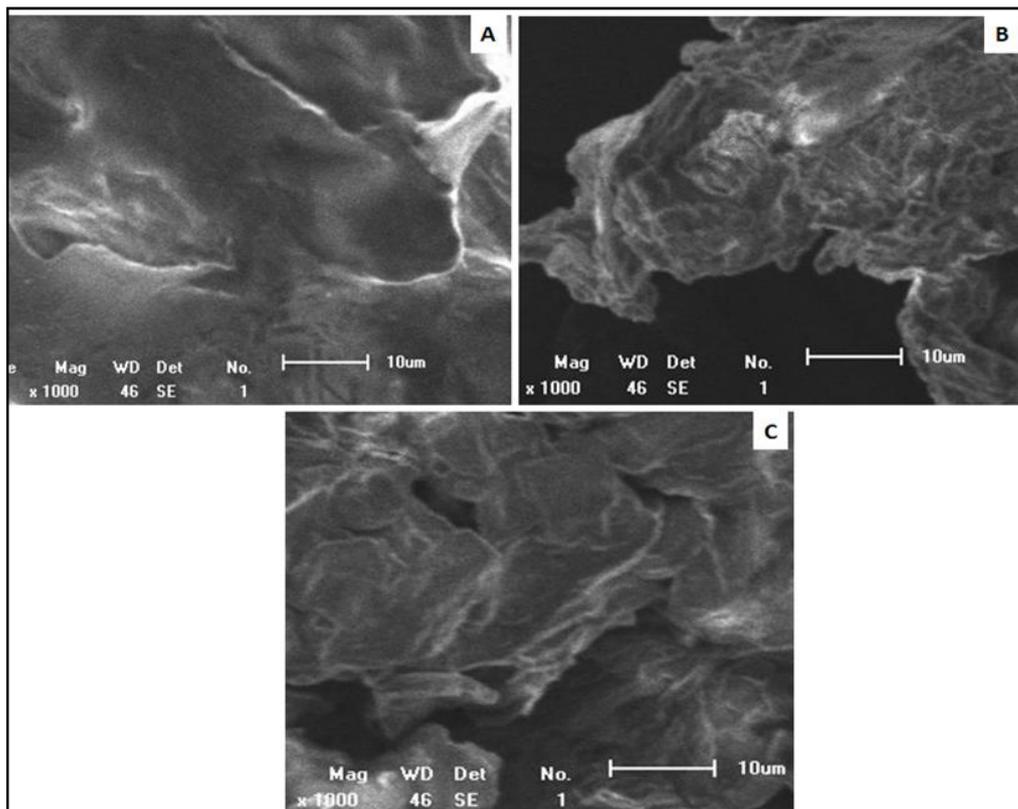
Caparino et al. (2012) em seu estudo sobre o efeito de métodos de secagem sobre as propriedades do pó de manga encontrou resultados ao avaliar o pó de acerola, no qual o processo de secagem por liofilização gerou um pó de características amorfas, com picos pouco elevados. De igual modo, outro autor estudando a estrutura da amora liofilizada encontrou como resultado do difratograma um material com estrutura sem ordem a longo alcance, com obtenção de picos pouco definidos e sem formação de estrutura cristalina naquela fruta liofilizada (CHERIEGATE, 2012).

3.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A MEV é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a análise de características microestruturais de objetos sólidos, de modo que a principal razão de sua utilidade é a alta resolução que pode ser obtida quando as amostras são observadas. Assim, valores da ordem de 2 a 5 nm são geralmente apresentados por instrumentos comerciais, enquanto instrumentos de pesquisa avançada são capazes de alcançar uma resolução menor que 1 nm. Portanto, o uso desta técnica vem se tornando mais freqüente por fornecer informações de detalhe, permitindo aumentos acima de 50.000 vezes e imagens tridimensionais de alta resolução (> 1 nm), o que torna essa técnica bastante versátil (DOMINGUES et al., 2008; DEDAVID et al., 2007).

O estudo da microestrutura foi realizado nos bioprodutos em pó obtido de diferentes partes do fruto de buriti a fim de verificar as mudanças da microestrutura do pó produzido a partir da polpa, casca e do endocarpo. Os resultados gerados pelo MEV são mostrados na **Figura 11A, B e C** com imagens da polpa, casca e endocarpo liofilizados de buriti, em ampliação de 1000x.

Figura 11 - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura) do pó de polpa (a), casca (b) e endocarpo (c) do fruto de buriti desidratado por liofilização. Resoluções de 1000x.



Fonte: autoria própria

De maneira geral as superfícies dos pós desidratados sem adição de adjuvante de secagem, pelo método de liofilização, apresentaram-se enrugados com depressões provocadas pela retirada de água do processo, conforme **Figura 11** (polpa - A, casca – B e endocarpo – C).

Nossos achados demonstraram que o processo de liofilização gerou pós com características e estruturas pouco amorfas para as três amostras avaliadas (**Figura 11**), conforme MEV, mas que em DRx verificou-se a semi-cristalinidade. As estruturas amorfas podem ser visualizadas em sistemas constituídos de frutose, que em nossas amostras a polpa apresenta maior quantidade, e tais estruturas são caracterizadas por

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

um estado desordenado em que não há repetição de formas geométricas e presença de faces planas bem estabelecidas, sendo comuns em produtos liofilizados (MOSQUERA et al., 2010). No estudo de Ribeiro (2014) em que o autor avaliou por Microscopia Eletrônica de Varredura o pó de polpa de acerola desidratada em liofilizador sem adição de maltodextrina, as micrografias encontradas foram semelhantes ao de nosso estudo.

A presença de açúcares, especialmente na polpa em pó (**Figura 11A**) é um fator de predisposição para a obtenção de um pó com microestrutura mais amorfa, assim como a aplicação do processo de liofilização, pois segundo Carneiro (2014), o mecanismo da liofilização, composto por congelamento seguido de secagem, induz a obtenção de produtos no estado amorfo devido ultrapassagem da T_g (temperatura de transição vítrea) durante o congelamento que fará com que a solução amorfa concentrada fique menos viscosa podendo ocorrer um colapso do produto no momento em que o gelo é sublimado. Este colapso é devido à fluidez de líquido viscoso para dentro de camadas de interface, seguido do aparecimento de uma camada provocada pela expansão da matriz durante a ebulição, que atua como uma barreira, caracterizando assim a estrutura amorfa.

Essa temperatura de transição vítrea (T_g) é uma transição caracterizada por uma interrupção na relação entre temperatura e capacidade calorífica e está diretamente relacionada com a proporção dos componentes, de maneira que há um aumento com o peso molecular de materiais poliméricos usados na formulação, e há uma diminuição com o aumento da umidade (CAVALCANTI MATA et al., 2005).

A casca e o endocarpo de buriti, possuem maior quantidade de componentes insolúveis (fibras) que a polpa, assim como menor teor de açúcares, de forma que apresentaram no estudo de microscopia (MEV), uma relação morfológica mais próxima e esses dados são semelhantes também nas curvas de DSC e DR-x.

3.5.4 Propriedades reológicas

Os dados experimentais de tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento das curvas de fluxo ascendente obtidos no reômetro, foram ajustados ao modelo reológico de *Ostwald-de-Waele* (Lei da Potência) para a obtenção dos parâmetros com a finalidade de descrever o comportamento reológico das soluções de buriti, obtidas a partir da polpa, casca e endocarpo em pó liofilizados.

O modelo Lei da Potência foi escolhido para obtenção dos parâmetros de índice de consistência (K) e índice de comportamento de fluido (n), por ser muito

usado para descrever o comportamento de alimentos devido a sua simplicidade e ampla aplicabilidade nas análises teóricas e na prática de cálculos de engenharia (BRANCO, GASPARETTO, 2005). Esse modelo da Lei da Potência ajustou apropriadamente o reograma das soluções de buriti com alto coeficiente de determinação (R^2).

As amostras de polpa e endocarpo exibiram um comportamento pseudoplástico, em virtude dos valores de índice de comportamento do fluido (n) serem menores que 1 ($n < 1$), em temperatura de 25 °C, entretanto a casca apresentou comportamento dilatante com $n > 1$ (**Tabela 6**), por causa do elevado teor de fibras insolúveis presentes na casca ($49,97 \pm 1,12$). De acordo com Bourne (1982), o comportamento dilatante é encontrado em fluidos que contém uma proporção elevada de partículas rígidas insolúveis em suspensão, como alguns tipos de mel e suspensões de amido, ou mesmo como a casca do fruto de buriti avaliado no presente estudo que foi caracterizado com elevado teor de fibras insolúveis.

Tabela 6 - Parâmetros reológicos das soluções do buriti obtidos pela aplicação do modelo da Lei da Potência.

<i>Amostra</i>	<i>Parâmetros</i>		
	<i>K (Pa.s)</i>	<i>n</i>	<i>R²</i>
Casca	0,001 ± 0,000	1,472 ± 0,066	0,99
Endocarpo	3,038 ± 0,623	0,380 ± 0,035	0,86
Polpa	2,133 ± 0,500	0,300 ± 0,039	0,89

*K: índice de consistência; n: índice de comportamento de fluido; R^2 : coeficiente de regressão linear.

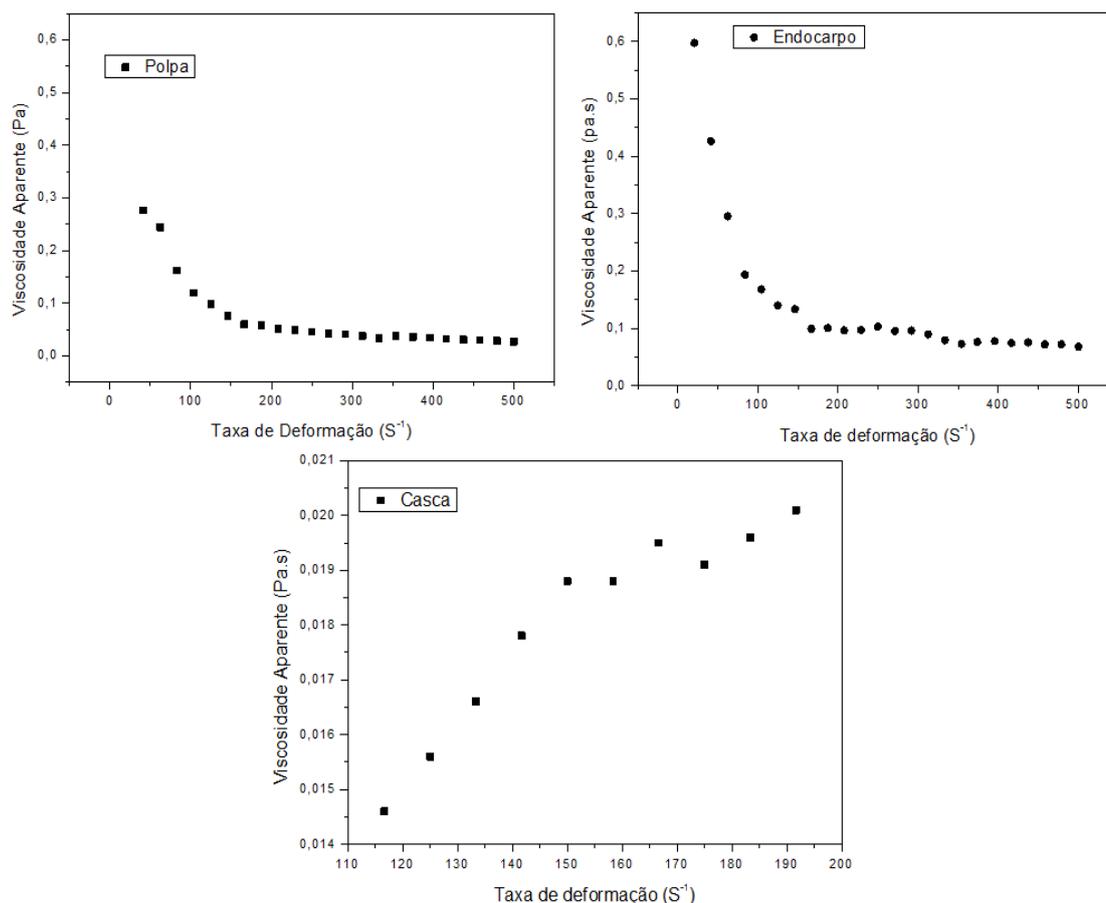
A relação entre viscosidade aparente e taxa de deformação pode ser observada na **Figura 12** e nas amostras de polpa e endocarpo as viscosidades aparentes apresentaram tendência de diminuição com o aumento da taxa de deformação, à temperatura de 25 °C, tornando-se mais fluidas, um comportamento característico de fluidos pseudoplásticos. A maioria dos estudos reológicos que envolvem polpas de frutas indica que elas apresentam comportamento não-newtoniano, com caráter pseudoplástico, apresentando características reológicas complexas devido a natureza bifásica desses produtos (DURAN, COSTELL, 2007).

De acordo com Saravacos e Kostaropoulos (1995), as polpas de frutas, dispersões de moléculas ou partículas assimétricas apresentam no repouso um estado desordenado e quando submetidas a uma tensão de cisalhamento, suas moléculas ou

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

partículas tendem a orientar-se na direção da força aplicada. Quanto maior a força aplicada, maior será a ordenação, e conseqüentemente, menor a viscosidade aparente. Como a viscosidade aparente das polpas de frutas decresce com o aumento da tensão de cisalhamento, estas são classificadas como fluidos pseudoplásticos.

Figura 12 - Relação entre viscosidade aparente e taxa de deformação para polpa, endocarpo e casca em pó do buriti.



A casca apresentou comportamento inverso às demais amostras, com a viscosidade aparente aumentando com a taxa de deformação, tal fato pode ser explicado em virtude da não dissolução total das partículas presentes na amostra, que provoca o contato direto com as partículas sólidas e, conseqüentemente, o aumento da viscosidade aparente (FREITAS, 2002).

4 CONCLUSÃO

A polpa, a casca e o endocarpo do fruto do buriti analisados no presente estudo apresentaram alto percentual de carboidratos, lipídios e fibras. Todas as

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

frações do fruto do buriti analisadas foram considerados fontes de fibras, potássio e magnésio, bem como ácidos oléico. Entretanto, a casca destacou-se quanto ao valor nutricional e funcional por apresentar o maior teor de fósforo, ferro e cromo, além dos maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados e de ser a única fração do fruto a apresentar fitoesteróis em sua composição. Quanto as propriedades reológicas e morfológicas, as amostras de polpa e endocarpo de buriti, apresentam características semi-cristalinas e pseudoplásticas, enquanto a casca apresentou comportamento inverso, dilatante. As características físico-químicas e nutricionais da polpa e demais partes do fruto do buriti são consideradas satisfatórias e promissoras para o processamento industrial, o que pode potencializar o cultivo e a comercialização deste fruto que apresenta características funcionais importantes.

REFERÊNCIAS

- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. (19th ed). Gaithersburg: AOAC, 2012.
- AQUINO J.S.; VASCONCELOS, M.H.;PESSOA D.C.N.D.;BARBOSA, J.K.; PRADO, J.P.S.; MAGNANI, M., STAMFORD T.L.M. Intake of cookies made with buriti oil (*Mauritia flexuosa*) improves vitamin A status and lipid profiles in young rats. **Food and Function**, in press, DOI: 10.1039/C6FO00770H, 2016.
- AQUINO, J.S.; PESSOA, D.C.N.D.; ARAÚJO, K.L.G.V.; EPAMINONDAS, P.S.; SCHULER, A.R.; SOUZA, A.G.; STAMFORD T.L.M. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) originated from the Brazilian Cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 212-219, 2012.
- AQUINO, J.S.; SOARES, J.K.B.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T.C.M.; MASCARENHAS, R.J.; TAVARES, R.L., STAMFORD T.L.M. Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015.
- BATAGLION, G.A.; SILVA, F.M.A.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H.F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396-400, 2014.
- BECKER, F. S.; DAMIANI, C.; DE MELO, A. A. M.; BORGES, P. R. S.; DE BARROS VILAS BOAS, E. V. Incorporation of Buriti Endocarp Flour in Gluten-free Whole Cookies as Potential Source of Dietary Fiber. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n.4, p. 344–350, 2014.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T., CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Química Nova.**, vol.25, n.5, pp.849-855, 2002.

BERRY, S.E.; MULLA, U.Z.; CHOWIENCZYK, P.J.; SANDERS, T.A.B. Increased potassium intake from fruit and vegetables or supplements does not lower blood pressure or improve vascular function in UK men and women with early hypertension: a randomised controlled trial. **British Journal of Nutrition**, v. 104, p. 1839–47, 2010.

BERTO, A.; DA SILVA, A.F.; VISENTAINER, J.V.; MATSUSHITA, M.; DE SOUZA, N.E. Proximate compositions, mineral contents and fatty acid compositions of native Amazonian fruits. **Food Research International**, v. 77, 441–449, 2015.

BROADLEY, M.R.; WHITE, P.J. Eats roots and leaves. Can edible horticultural crops address dietary calcium, magnesium and potassium deficiencies? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, p. 601–612, 2010.

BROKAMP, G.; VALDERRAMA, N.; MITTELBACH, M.; GRANDEZ, C.A.; BARFOD, A.S.; WEIGEND, M. Trade in Palm Products in North-Western South America. **The Botanical Review**, v. 77, p. 571-606, 2011.

BRANCO, I. G.; GASPARETTO, C. A. Comportamento reológico de misturas de polpa de manga e sucos de laranja e cenoura utilizando modelo de Casson. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.8, p.183-189, 2005.

BOURNE, M. C. Food texture and viscosity: concept and measurement. New York : **Academic Press**, p.325, 1982.

CARNEIRO, L.R. **Produção de acerola em pó: métodos de secagem e avaliação de estabilidade**. Dissertação (Mestrado) – UFCE, Fortaleza, 124f., 2014.

CÂNDIDO, T.L.N.; SILVA, M.R.; AGOSTINI-COSTA, T.S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313–319, 2015.

CAPARINO, O.A.; TANG, J.; NINDO, C.I.; SABLANI, S.S.; POWERS, J.R.; FELLMAN, J.K. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine ‘Carabao’ var.) powder. **Journal of Food Engineering**, v.111, p.135–148, 2012.

CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; MEDEIROS, S. S. A.; DUARTE, M. E. M. Microencapsulamento do umbu em pó com diferentes formulações de maltodextrina: estudo do tamanho das partículas por microscopia eletrônica. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.7, p.59-70, 2005.

CORRÊA, S.C.; CLERICI, M.T.P.S.; GARCIA, J.S.; FERREIRA, E.B.; EBERLIN, M.N.; AZEVEDO, L.. Evaluation of dehydrated marolo (*Annona crassiflora*) flour and carpels by freeze-drying and convective hot-air drying. **Food Research International**, v. 44, p.2385–2390, 2011.

DEMBITSKY, V.M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; et al. The multiple nutrition properties of some

exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, v.44, p.1671–1701, 2011.

DURAN, L., COSTELL, E. Rheology of apricot puree: characterization of flow. **Journal of Texture Studies**, v.13, p. 43-58, 2007.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v.124, p. 411–421, 2011.

FERNANDES, F.A.N.; RODRIGUES, S.; LAW, C.L.; MUJUMDAR, A.S. Drying of Exotic Tropical Fruits: A Comprehensive Review. **Food and Bioprocess Technology**, v.4, p.163–185, 2011.

FILIP, M.; VLASSA, M.; COMAN, V.; HALMAGYI, A. Simultaneous determination of glucose, fructose, sucrose and sorbitol in the leaf and fruit peel of different apple cultivars by the HPLC–RI optimized method. **Food Chemistry**, v.199, p. 653–659, 2016.

FREITAS, I. C. Estudo das interações entre biopolímeros e polpas de frutas tropicais em cisalhamento estacionário e oscilatório. 271f. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) - Universidade de Campinas, Campinas, 2002.

FUJITA, E.; VIEITES, R.L.; DAIUTO, É.R.; SMITH, R.E. Refrigerated storage of the fruits of buriti (*Mauritia flexuosa* L.). **Advances in Horticultural Science Journal**, v.28, p. 3-8, 2014.

GARCÍA-SALAS, P., VERARDO, V., GORI, A., CABONI, M.F., SEGURA-CARRETERO, A., & FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Determination of lipid composition of the two principal cherimoya cultivars grown in Andalusian Region. **Food Science and Technology**, v.65, p. 390-397, 2016.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice, London**, v. 22, p. 475-476, 1973.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. (1997). Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington (DC): **National Academy Press**, 1997.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington (DC): **National Academy Press**, 2005.

KARP, H.J.; KETOLA, M.E.; LAMBERG-ALLARDT, C.J.E. Acute effects of calcium carbonate, calcium citrate and potassium citrate on markers of calcium and bone metabolism in young women. **British Journal of Nutrition**, v. 102, p. 1341–1347, 2009.

KIM, K.M.; CHOI, H.S.; CHOI, M-J.; CHUNG, H.Y. Calcium and Vitamin D Supplementations: 2015 Position Statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research. **Journal of Bone Metabolism**, v. 22, p.143-149, 2015.

KOOLEN, H.H., DA SILVA, F.M., GOZZO, F.F., DE SOUZA, A.Q.L., & DE SOUZA, A.D.L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, p. 467- 473, 2013.

KONCZAK, I; ROULLE, P. Nutritional properties of commercially grown native Australian fruits: Lipophilic antioxidants and minerals. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2339-2344, 2011.

LEE, H., & PARK, W.J. Unsaturated Fatty Acids, Desaturases, and Human Health. **Journal Medicinal Food**, v. 17, p.189-197, 2014.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. Brazilian Flora: Arecaceae (Palm). **Instituto Plantarum**: Nova Odessa, 2010.

MARANGONI, F.; POLI, A. Phytosterols and cardiovascular health. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 193–199, 2010.

MARQUES, L.G.; PRADO, M.M.; FREIRE, J.T. Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1232–37, 2009.

MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v.135, p. 1520-1526, 2012.

MERRILL, A.L.; WATT, B.K. **Energy value of foods: Basis and derivation, revised. Agriculture Handbook**, 74, Washington: United States Department of Agriculture, 1973.

MEDEIROS, M.C.; AQUINO, J.S.; SOARES, J.; FIGUEIROA, E.S.; MESQUITA, H.M.; PESSOA, D.C.; STAMFORD, T.M. Buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) negatively impacts somatic growth and reflex maturation and increases retinol deposition in young rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 46, p. 7–13, 2015.

MILANEZ J.T.; NEVES, L.C.; da SILVA, P.M.C.; BASTOS, V.J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R.C.; ROBERTO, S.R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 202, p. 77–82, 2016.

MOSQUERA, L. H.; MORAGA, G.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Effect of maltodextrin on the stability of freeze-dried borojó (*Borojoa patinoi* Cuatrec.) powder. **Journal of Food Engineering**, vol. 97, p. 72–78, 2010.

MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biogical Macromolecules**, v. 61, p.1– 6, 2013.

NAKAGAWA, K.; OCHIAI, T. A mathematical model of multi-dimensional freeze-drying for food products. **Journal of Food Engineering**, v. 161, p. 55–67, 2015.

PROSKY, L.; ASP, N-G.; SCHWEIZER, T.F.; DEVRIES, J.W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fibers in foods and food products. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v. 75, p. 360-367, 1992.

RIBEIRO, L.C. **Produção de acerola em pó: métodos de secagem e avaliação da estabilidade**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Fortaleza, 2014.

ROMERO, A. B. R.; MARTINS, M. C. C. NUNES, P.H. M.; FERREIRA, N. R. T.; BRITO, A. K. S.; CUNHA, P.F. M.; LIMA, A.; ASSIS, R. C.; ARAUJO, E.M. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of Buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.). **Nutrición Hospitalaria**, v.32, p.2153-2161, 2015.

SILVA, M.F.; LOPES, P.S.; SILVA, C.F.; YOSHIDA, C.M.P. Active packaging material based on buriti oil – *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, p. 1-9, 2016.

SIQUEIRA, E.P., ANDRADE, A.A., DE SOUZA-FAGUNDES, E.M., RAMOS, J.P., KOHLHOFF, M., NUNES, Y.R., COTA, B.B. *In vitro* antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L.f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, p. 1408-1417, 2014.

SPILLER, G.A. Suggestions for a basis on which to determine a desirable intake of dietary fibre. In G. A. Spiller (Ed.), **CRC handbook of dietary fibre in human nutrition**. Florida, USA: CRC Press. p 281–283, 1986.

TAVARES, R.L.; SILVA, A.S.; CAMPOS, A.R.N.; SCHULER, A.R.P.; AQUINO, J.S. Nutritional composition, phytochemicals and microbiological quality of the legume, *Mucuna pruriens*. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p.676-682, 2015.

TANOBUCHI C.N; DOBBIES, J.; DUNN, M.A. Heme iron, non-heme iron, and mineral content of blood clams (*Anadara* spp.) compared to Manila clams (*V. philippinarum*), Pacific oysters (*C. gigas*), and beef liver (*B. taurus*). **Composition & Analysis**, v. 57, p.49-56, 2017.

TIAN, T.; ZHAO, Y.; HUNAG, Q.; LI, J. n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Improve Inflammation via Inhibiting Sphingosine Kinase 1 in a Rat Model of Parenteral Nutrition and CLP-Induced Sepsis. **Lipids**, v. 51, p. 271–278, 2016.

ZANATTA, C.F.; UGARTONDO, V.; MITJANS, M.; ROCHA-FILHO, P.A.; VINARDELL, M.P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. **Food Chemical Toxicology**, v. 48, p. 70-75, 2010.

CAPÍTULO 3

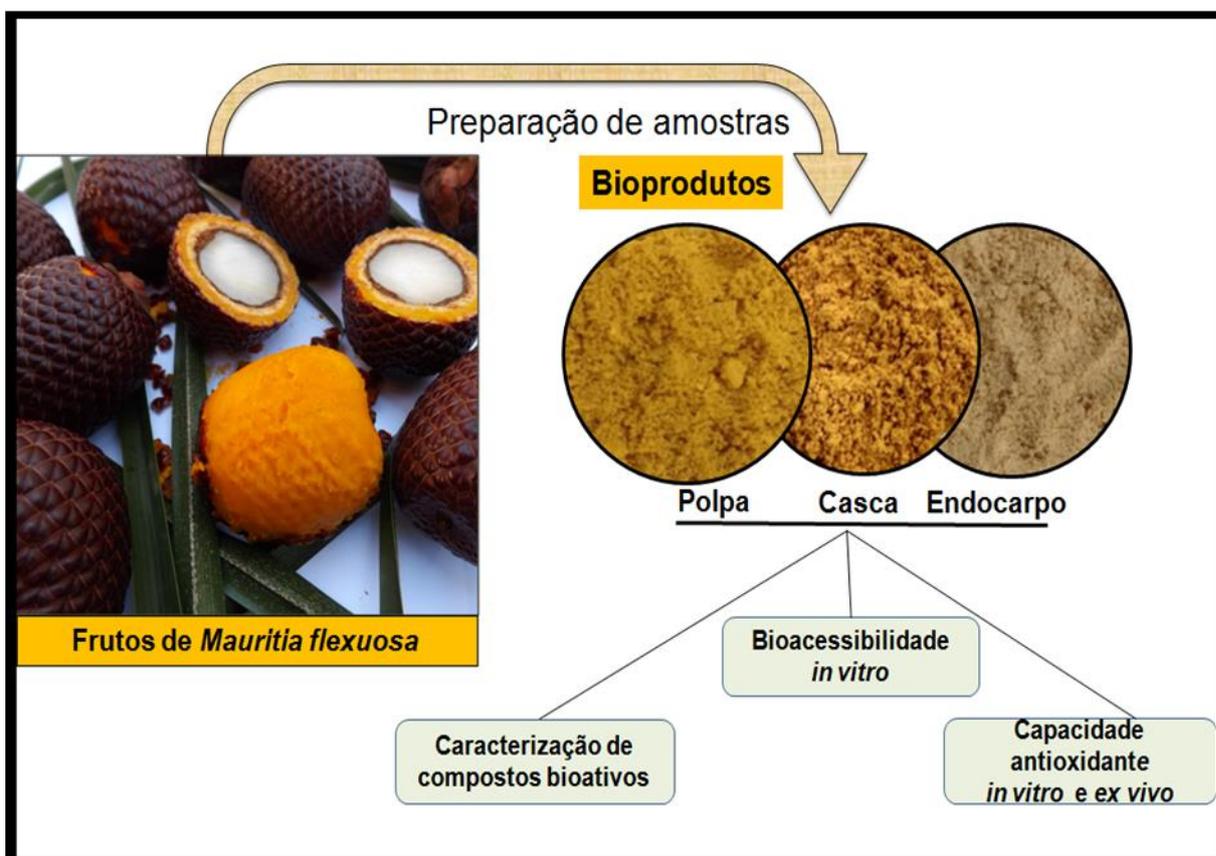
Ação quimiopreventiva *in vitro* e *ex vivo* de produtos de *Mauritia flexuosa* e bioacessibilidade simulada de compostos bioativos



In vitro and *ex vivo* chemoprevention action of *Mauritia flexuosa* products and simulated bioaccessibility of bioactive compounds

Artigo submetido em A2: Food Research International

RESUMO GRÁFICO



Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

Ação quimiopreventiva *in vitro* e *ex vivo* de produtos de *Mauritia flexuosa* e bioacessibilidade simulada de compostos bioativos

RESUMO

Mauritia flexuosa (Arecaceae), popularmente conhecida como "Buriti", é uma palmeira brasileira com alto potencial econômico para comunidades locais. Neste trabalho, investigamos o perfil fitoquímico e o potencial antioxidante de frutos de *M. Flexuosa*, além de determinarmos a bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos. As cascas liofilizadas do fruto de buriti revelaram valores mais altos de fenóis, flavonoides, carotenóides e taninos quando comparado à polpa e endocarpo ($p < 0,05$). Todas as amostras mostraram capacidade antioxidante dependente da concentração (0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL) e as cascas apresentaram maior capacidade de eliminação dos radicais livres em todos os métodos explorados ($p < 0,05$). Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicado e revelaram compostos fenólicos (ácido protocatecuico, quercetina, apigenina, catequina e epicatequina) com os seguintes tempos de retenção (tR): 16,3, 33,6, 41,7, 53,6 e 49,3 min., respectivamente. Mas esses compostos exibiram redução da bioacessibilidade após digestão gastrointestinal simulada *in vitro* em extratos de polpa (38,7%), casca (18,7%) e endocarpo (22,3%), respectivamente ($p < 0,05$). Os frutos de buriti também protegem as células sanguíneas de ratos *Wistar* contra a hemólise induzida por radicais peroxila. Assim, detalhamos, pela primeira vez, melhores potencialidades quimiopreventivas dos subprodutos de *M. flexuosa*, uma vez que as cascas apresentaram maiores quantidades de compostos bioativos e substâncias fenólicas antes e depois da investigação de bioacessibilidade *in vitro*. Essas partes da fruta são descartadas ou subutilizadas no Brasil, principalmente como alimento para animais ruminantes. Assim, é importante explorar as características nutricionais desses subprodutos com potencial para uso como ingredientes em alimentos funcionais, nutracêuticos e cosméticos, além de biotecnologicamente sustentáveis.

Palavras-chave: Frutas exóticas tropicais. Alimento Funcional. Capacidade antioxidante. Proteção celular

***In vitro* and *ex vivo* chemoprevention action of *Mauritia flexuosa* products and simulated bioaccessibility of bioactive compounds**

Joilane Alves Pereira-Freire^{a,b}, George Laylson da Silva Oliveira^b, Layana Karine Farias Lima^c, Stella Regina Arcanjo Medeiros^a, Ana Cristina Silva de Lima^d, Sabrina Almondes Teixeira^e, Carla Lorena Silva Ramos^c, Guilherme Antônio Lopes de Oliveira^b, Luciano da Silva Lopes^f, Larissa Araújo Rolim^h, Joaquim Soares da Costa Júnior^g, Paulo Michel Pinheiro Ferreira^{b,f,*}

^a Department of Nutrition, Federal University of Piauí, 64607-670, Picos, Piauí, Brazil

^b Postgraduate Program in Biotechnology (RENORBIO), Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil

^c Department of Pharmacy, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil

^d Postgraduate Program in Biotechnology, Federal University of Ceará, 60020-181, Fortaleza, Ceará, Brazil

^e Postgraduate Program in Foods and Nutrition, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil

^f Department of Biophysics and Physiology, Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil

^g Federal Institute of Piauí, 64000-060, Teresina, Piauí, Brazil

^h Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Vale do São Francisco, 56304-205, Petrolina, Pernambuco, Brazil

*Corresponding author at: Laboratory of Experimental Cancerology, Department of Biophysics and Physiology, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil. E-mail address: pmpf@ufpi.edu.br (P. M. P. Ferreira).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

***In vitro* and *ex vivo* chemoprevention action of *Mauritia flexuosa* products and simulated bioaccessibility of bioactive compounds**

Abstract

Mauritia flexuosa (Arecaceae), popularly known as “Buriti”, is a Brazilian palm tree with high economic potential for local communities. Herein, we investigated the phytochemistry profile and antioxidant potential of *M. flexuosa* fruits and determined the bioaccessibility of phenolic compounds. Peels revealed the highest values for phenols, flavonoids, carotenoids, and tannins when compared to the pulps and endocarps ($p < 0.05$). All samples showed growing capacity in a concentration-dependent manner (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mg/mL) to scavenger free radicals and peels presented a higher scavenger capacity in all methods explored ($p < 0.05$). All chromatographic analysis were carried out in triplicate and revealed phenolic compounds (protocatechuic acid, quercetin, apigenin, catechin and epicatechin) with the following t_R : 16.3, 33.6, 41.7, 53.6 and 49.3 minutes, respectively, but such compounds displayed bioaccessibility reduction after *in vitro* simulated gastrointestinal digestion in pulp (38.7 %), peel (18.7 %) and endocarp (22.3 %) extracts, respectively ($p < 0.05$). Buriti fruits also protect rat blood cells against lysis induced by peroxy radicals. So, we detailed, for the first time, better chemopreventive potentialities of *M. flexuosa* by-products, since peels demonstrated higher quantities of bioactive compounds and phenolic substances before and after *in vitro* bioaccessibility investigation. These parts of the fruit are discarded or underused in Brazil, mainly as feed for ruminant animals. So, it is important to explore nutritional characteristics of these by-products with potential for use in human foods and sustainable biotechnologies.

Keywords: exotic tropical fruit; functional food; antioxidant capacity; cell protection.

1 INTRODUÇÃO

Os compostos bioativos têm funções naturais nas plantas tais como propriedades sensoriais (cor, aroma, sabor e adstringência) e defesa contra microorganismos e predadores (MURKOVIC, 2016). Por outro lado, nos últimos anos, houve um aumento da oferta e da procura de alimentos saudáveis e com propriedades funcionais, a partir do conhecimento e disseminação de informações a respeito dos benefícios que a ingestão de nutrientes advindos de frutas e vegetais exercem na saúde dos seres humanos.

Uma dieta rica em compostos antioxidantes associados a mecanismos enzimáticos endógenos pode ajudar a minimizar o desenvolvimento de danos oxidativos causados por radicais livres (elétrons livres), principalmente espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), uma vez que estas moléculas instáveis são produzidas em consequência de atividades metabólicas normais e/ou em desequilíbrio. Entretanto, estudos têm demonstrado correlações epidemiológicas e biológicas desses radicais livres formados com o desenvolvimento de doenças crônicas ou não crônicas tais como hipercolesterolemia, aterosclerose, hipertensão, isquemias, inflamação, fibrose cística, diabetes, Parkinson, Alzheimer, câncer e até mesmo uma relação com o próprio processo de envelhecimento precoce (BENS, YAU., 2008; OLIVEIRA et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015; MORAIS et al., 2016; TUR, BIBILONI, 2016; SRDIC-RAJIC, KONIC-RISTIĆ., 2016; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ et al., 2017).

"Buriti" - *Mauritia flexuosa* L. f. - pertence à família Arecaceae, uma palmeira amplamente distribuída na América do Sul, especialmente na região amazônica e Cerrado brasileiro. Esse fruto tem demonstrado elevado potencial nutricional e econômico com base no desenvolvimento de biotecnologia sustentável e utilização de recursos naturais, no entanto, na indústria alimentícia brasileira, a casca e o endocarpo são comumente descartados ou subutilizados, em detrimento da utilização da polpa no preparo de doces, sorvetes, sucos, compotas e mingaus, além da extração do óleo (CHAVES et al., 2015). Além disso, alguns estudos enfatizam as potencialidades farmacológicas de partes da *M. flexuosa*, como antimicrobianos (KOOLEN et al., 2013a, 2013b; SIQUEIRA et al., 2014), antitumorais (SIQUEIRA et al., 2014), hipolipemiantes (AQUINO et al., 2014; AQUINO et al., 2016), hipoglicemiantes (BATAGLION et al., 2014) e com ação de cicatrização (BATISTA et al., 2012).

Para plantas exóticas e subexploradas, como a *Mauritia flexuosa* e seu fruto, ainda são superficiais o conhecimento dos principais fatores que interferem na saúde humana e na importância biológica do consumo desses alimentos, dentre esses fatores estão a ingestão de nutrientes e sua bioacessibilidade/biodisponibilidade em todo o trato gastrointestinal (BRIONES-LABARCA et al., 2011; PALAFOX-CARLOS et al., 2011). Nesta perspectiva, o desenvolvimento de estudos sobre o uso de frutas regionais e tropicais deve ser encorajado, para avançarmos no conhecimento do uso de frutas frescas, assim com em pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos produtos (PARADA, AGUILERA, 2007; TAGLIAZUCCHI et al., 2010).

Nessa pesquisa objetivou investigar o teor de compostos bioativos em extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo de buriti, além de avaliar o percentual de compostos fenólicos bioacessíveis por intermédio de digestão gastrointestinal simulada *in vitro*. Além disso, em extrato aquoso foi determinado o potencial antioxidante, nas mesmas partes do fruto. A capacidade antioxidante foi avaliada pela inibição dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH[•]), 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS^{•+}) e óxido nítrico (NO), bem como a sua capacidade de transferir elétrons pelo potencial redutor e de inibição da peroxidação lipídica pelo método TBARS. Além destes testes, também foi avaliado a capacidade protetiva contra o dano oxidativo induzido em eritrócitos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes químicos

2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH[•]), 2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido-sulfônico) (ABTS^{•+}), ácido tiobarbitúrico, ácido tricloroacético, cloreto férrico, ferricianeto de potássio, dihidrocloridrato de 2,2'-azobis 2-metilpropinamida (AAPH), nitroprussiato de sódio (NPS), Triton X-100, Folin-Ciocalteu, carbonato de sódio, ácido gálico, cloreto de alumínio, quercetina, β -caroteno, iodeto de potássio e persulfato de potássio. Todos os reagentes químicos eram de grau analítico e foram obtidos da Sigma–Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA).

2.2 Origem do fruto e preparo da amostra: material vegetal

Uma quantidade de 300 unidades de frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) foram coletados na cidade de Água Branca, estado do Piauí, latitude 5° 54'S; longitude

42°38'W, no mês de dezembro de 2014, e levados ao Laboratório do Instituto Federal do Piauí (IFPI) para iniciar o processo de despolpa e separação das partes do fruto.

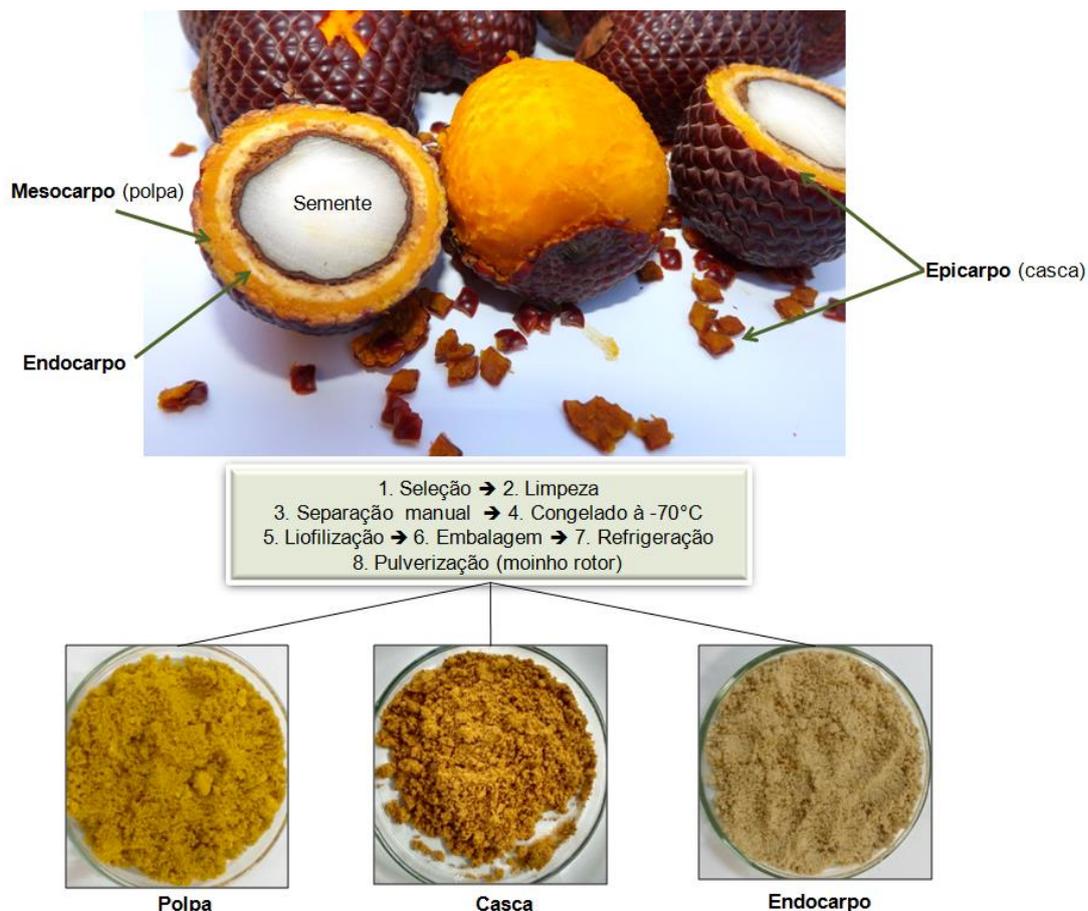
A excisata de N° 30567 foi depositada no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), referente à *M. flexuosa* L. Os frutos foram selecionados quanto à sanidade e mesmo estágio de maturação, para posteriormente serem higienizados em água contendo 25 ppm de hipoclorito de sódio comercial. Em seguida, foi realizado o processo de despolpa e separação das partes do fruto, obtendo-se a polpa ou mesocarpo, epicarpo e o endocarpo.

As amostras, polpa (PL), casca (CL) e endocarpo (EL), foram liofilizados e analisados somente após esse processo. Para o processo de liofilização, as diferentes partes do buriti foram congeladas separadamente em ultrafreezer, na temperatura de -70 °C para em seguida, serem depositadas em bandeja de aço inoxidável do liofilizador modelo L101 (Liotop, São Carlos, Brasil), que foi hermeticamente fechado e acionado o sistema de congelamento. Todas as amostras foram liofilizadas em temperatura de -40°C e pressão à vácuo abaixo de 500 mmHg e velocidade de liofilização de 1 m/h (unidade de vazão), por 72 horas. As amostras liofilizadas foram acondicionadas em embalagens plásticas e sob refrigeração, para em seguida serem processadas em moinho de rotor tipo ciclone (TE-651/2-TECNAL) até a obtenção de um pó homogêneo (0,5 mesh) (**Figura 1**).

2.3 Preparo do extrato aquoso e metanólico

As três amostras analisadas do fruto de buriti, após o processo de desidratação por liofilização e processamento em moinho rotor (**Figura 1**), foram posteriormente submetidas à extração com solução aquosa e metanólica por maceração em gral de pistilo durante 10 minutos (1/10, amostra/solvente) até obter uma consistência uniforme. Em seguida, foi realizado o armazenamento dos extratos metanólico e aquoso em 4 °C por até 2 dias até o procedimento das análises de quantificação dos compostos bioativos (fenóis, flavonoides, carotenoides e taninos) e capacidade antioxidante, respectivamente.

Figura 1- Processamento das amostras de buriti



Fonte: autoria própria.

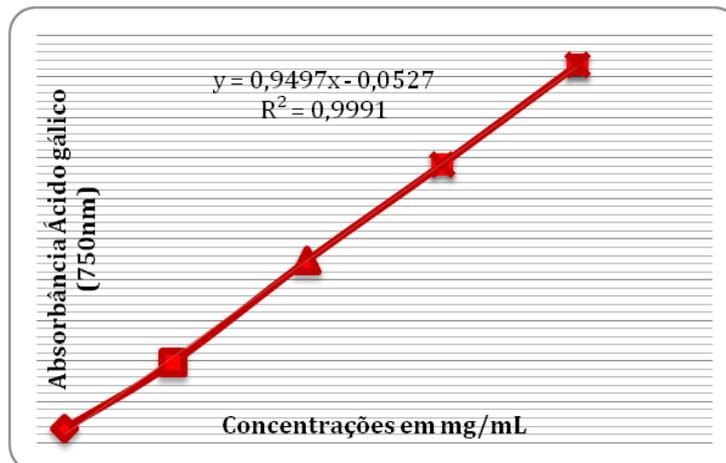
2.4 Determinação de fenóis, flavonoides, carotenoides e taninos condensados e hidrolisáveis

2.4.1 Fenóis totais

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo uso do reagente *Folin-Ciocalteu* conforme Oliveira et al. (2015). Para cada um 1 mL da solução de PL, CL e EL na concentração de 10 mg/mL (amostra + metanol), foi acrescentado 1 mL de *Folin-Ciocalteu* (1:4), 1 mL de carbonato de sódio 15% (Na_2CO_3) e o volume completando com água destilada até 10 mL. Esta mistura foi deixada em repouso por 2h e após esse tempo, foram centrifugadas a 4000 rpm por 4min, e realizou a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro (750 nm). Simultaneamente, foi preparado um controle negativo sem as amostras do fruto em estudo. A análise foi realizada em quintuplicata e os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico por 100g de amostra (mg EAG/100 g AM). Foi preparada uma curva de calibração do ácido gálico ($y = 0,9497x - 0,0527$; $r^2 = 0,999$) (Figura 2).

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

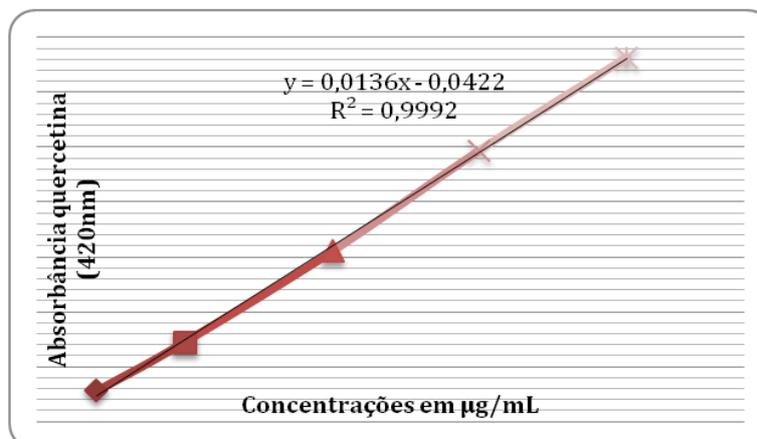
Figura 2 - Curva de calibração do ácido gálico para determinação do teor de fenólicos totais, com absorbância a 750 nm.



2.4. 2 Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado com base na formação de complexo de flavonoide-alumínio, conforme metodologia de Oliveira et al. (2015). Para 1 mL de solução de PL, CL e EL na concentração de 10 mg/mL (amostra + metanol), foi acrescido de 1 mL de cloreto de alumínio 20% e em seguida foi acrescido 100 μ L de ácido acético 50%. Logo em seguida, esta mistura foi deixada em repouso por 30 min e após esse tempo, foram centrifugadas a 4000 rpm por 4 min, e realizou a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro digital na absorbância de 420 nm. A análise foi realizada em quintuplicata e os resultados foram expressos em miligrama de equivalente de quercetina por 100 g de amostra (mg EQE/100g AM). Foi preparada uma curva de calibração da quercetina ($y = 0,0136x - 0,0422$; $r^2 = 0,999$) (**Figura 3**).

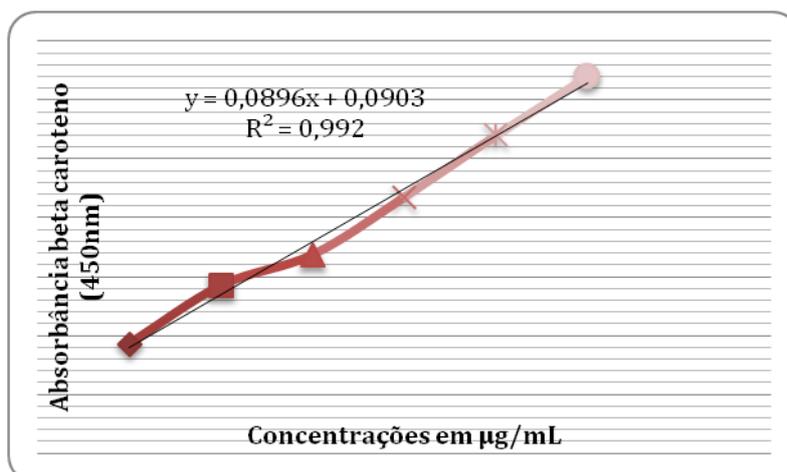
Figura 3 - Curva de calibração da Quercetina para determinação do teor de flavonoides totais, com absorbância a 420 nm.



2.4.3 Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais foi determinado conforme a metodologia descrita por Zhang et al. (2016) com algumas modificações. Um mistura de 0,1 g de PL, CL e EL em 10 mL da solução acetona:hexano (4:6) foi vigorosamente agitada durante 10 minutos à temperatura ambiente (400 rpm) e logo em seguida esta mistura foi centrifugada por 4 minutos (4000 rpm). A absorvância foi medida usando espectrofotômetro digital na absorvância de 450 nm. A análise realizada em quintuplicata e resultados expressos em miligrama de equivalente de β -caroteno por 100g de amostra (mg β CTE/100g AM). A curva de calibração do β -caroteno foi $y=0,0896x - 0,0903$ e $r^2 = 0,992$. (Figura 4).

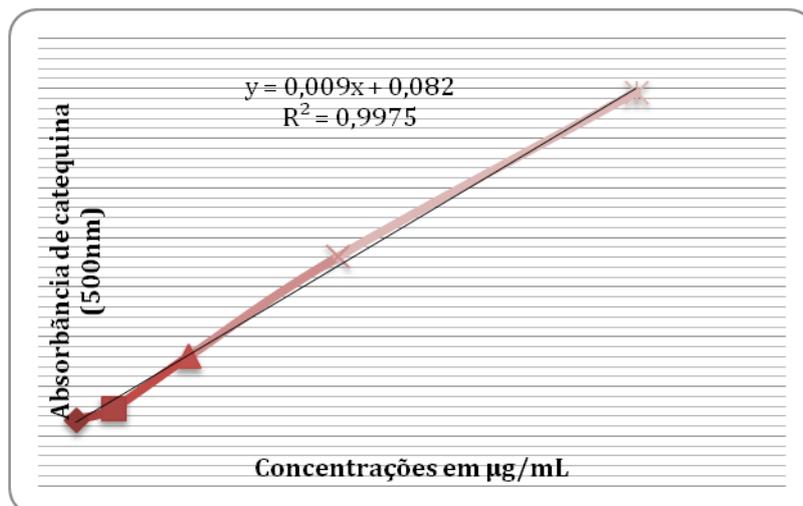
Figura 4 – Curva de calibração do β -caroteno com absorvância de 450 nm.



2.4.4 Taninos condensados

O teor de taninos condensados foi determinado usando vanilina conforme a metodologia de Broadhurst; Jones (1978) com modificações. Para a solução metanólica contendo 1 mL de PL, CL e EL na concentração de 10 mg/mL, foi adicionada 3 mL de vanilina 2% preparado com ácido sulfúrico (70%) e logo em seguida a mistura reacional foi colocada em banho maria a 20 °C durante 15min. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 4 min/4000 rpm, em seguida, leitura em espectrofotômetro a 500 nm. O teste foi realizado em quintuplicata e os resultados expressos em miligrama de equivalente de catequina por grama de amostra (mg CTQ/100g AM). A curva de calibração da catequina foi ($y = 0,009x + 0,082$; $r^2 = 0,997$) (Figura 5).

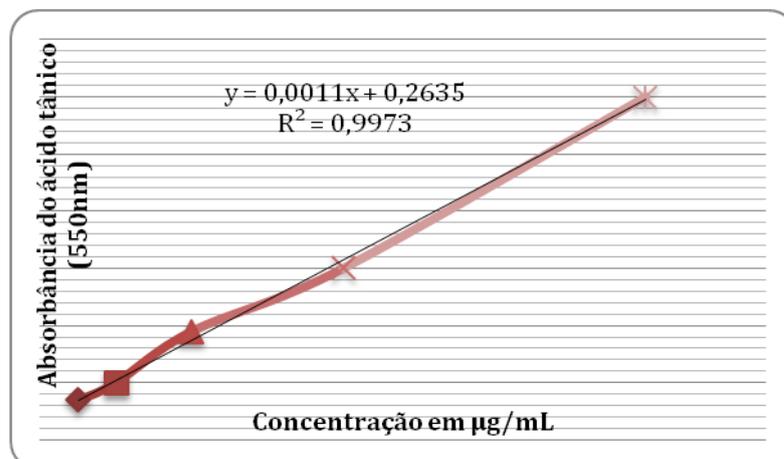
Figura 5 – Curva de calibração da catequina, com absorvância em 500 nm.



2.4.5 Taninos hidrolisáveis

O teor de tanino hidrolisável foi determinado usando iodeto de potássio conforme a metodologia de Bossu et al. (2006) com modificações. Para 3 mL de extrato metanólico de PL, CL e EL, na concentração de 10 mg/mL, foi adicionado 1 mL de uma solução saturada de iodeto de potássio para em seguida deixar em repouso à temperatura ambiente durante 40 min. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 4 min (4000 rpm) e em seguida, realizou leitura de absorvância em espectrofotômetro a 550 nm. O teste foi em quintuplicata e os resultados expressos em miligrama de equivalente de ácido tânico por grama de amostra (mg ACT/100g AM). A curva de calibração do ácido tânico foi ($y = 0,0011x + 0,2635$; $r^2 = 0,997$) (Figura 6).

Figura 6 – Curva de calibração do ácido tânico, com absorvância de 550 nm.



2.5 Caracterização fitoquímica por CLAE / HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência: análise qualitativa

O equipamento cromatográfico consistiu em cromatógrafo líquido de alta eficiência (*Shimadzu*®), equipado com um detector de matriz de diodos (DAD). Equipado com um sistema quaternário de bombas modelo LC - 20ADVP, modelo de degaseificador DGU - 20A, detector PDA modelo SPD - 20AVP, forno modelo CTO - 20ASVP, injetor modelo automático SIL - 20ADVP e controlador modelo SCL - 20AVP, sendo os dados inseridos em *Software Shimadzu*® LC solution 1.0 (Japão).

A fase móvel consistiu em solventes de A a C utilizando três bombas equipadas com o cromatógrafo. O solvente A água grau HPLC (0,1% v/v. ácido trifluoroacético), solvente B foi acetonitrila (0,1% v/v. ácido trifluoroacético) e C - metanol grau HPLC. Utilizou-se uma coluna TSK-GEL Super-ODS (Supelco). A absorvância do efluente foi monitorizada a 250 e 330 nm. A taxa de fluxo foi ajustada para 1,0 mL/min, e a temperatura da coluna foi mantida a 37 °C ao longo do ensaio.

A condição de solvente inicial foi 100% de solvente B. Foi utilizado um gradiente linear para aumentar o solvente A de 0 a 10% em 7 min. Esta composição solvente foi mantida a um fluxo isocrático durante 3 min. O solvente A foi então aumentado de 10 para 40% usando um gradiente linear de 20 min. Esta composição foi então mantida durante 2min e voltou à condição inicial em 3 min. Foram injetados amostras de 20 µL para as substâncias padrão e amostras durante a análise por HPLC.

2.6 Determinação dos fenólicos totais após a digestão gastrointestinal simulada “*in vitro*”

O processo de digestão foi realizado com base nos fluidos gástrico simulado (pepsina solubilizado com HCl a 0,1 mol.L⁻¹) e intestinal simulado (sais biliares e pancreatinina solubilizados com NaHCO₃ a 0,1 mol.L⁻¹), ambos conforme o implementado por Moura e Canniatti-Brazaca (2006).

Em uma concentração de 10 mg/mL (mesma concentração utilizada para obtenção de fenóis totais), as amostras de polpa, casca e endocarpo do fruto de buriti foram adicionadas a 100 mL de HCl a 0,01 mol.L⁻¹ e ajustada a pH 2 com solução de HCl a 2 mol.L⁻¹. Após o ajuste do pH, adicionou-se 3,2 mL de pepsina, mantendo a amostra sob agitação em temperatura de 37 °C por 2h, para simular a digestão dos alimentos no estômago. Posteriormente, para simular o pH encontrado no intestino humano, realizou-se titulação com NaOH a 0,5 mol.L⁻¹ até obtenção de pH 7,5.

Sequencialmente foi realizado um processo de diálise, durante 2h, em membrana dialítica (33x21 mm, peso molecular: 12,000 - 16,000 e porosidade: 25 *angstroms* - INLAB, Brasil) contendo NaHCO₃ a 0,1 mol.L⁻¹ equivalente a acidez titulável. Após ajuste do pH, adicionaram-se as membranas de diálise e agitou-se num banho de água termostatizado a 37 °C/30 min, e em seguida 5,0 ml de solução de sais biliares e pancreatina foram adicionados e a mistura agitada num banho a 37 °C, por um período de 2 h. Este passo simula a digestão dos alimentos no intestino.

Por fim o conteúdo da membrana (dialisado) foi removido e as amostras foram armazenadas a 20 °C até o tempo de análise. Para a determinação de fenólicos totais após digestão gastrointestinal simulada *in vitro*, das amostras de buriti, foram analisados os materiais dialisados seguindo a metodologia de Oliveira et al. (2015). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico/100 g da amostra e a porcentagem bioacessível foi calculada de acordo com Briones-Labarca et al. (2011):

% Bioacessível = 100 x (F/G) **Equação (1)**

Onde, F é o conteúdo de compostos fenólicos dialisável (mg ácido gálico/100 g) e G corresponde ao teor de compostos fenólicos totais da amostra (mg ácido gálico/100g).

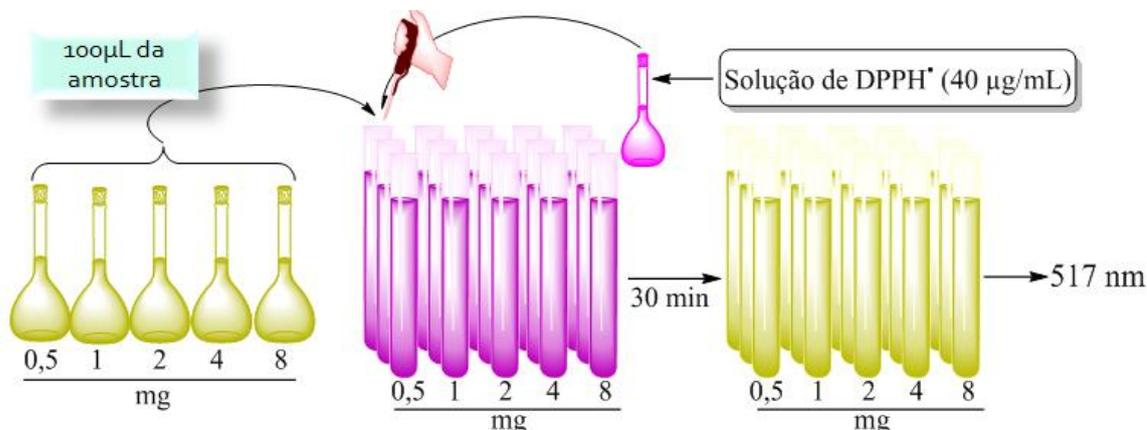
2.7 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro*

2.7.1 Determinação da capacidade antioxidante contra o radical DPPH[•]

Para o método DPPH[•], foi utilizada a metodologia descrito por Brand-Williams et al., 1995, com algumas modificações. Resumidamente, alíquotas de 100 µL da solução aquosa contendo PL, CL e EL do fruto da *M. flexuosa* foram distribuídas em tubos de ensaios conforme as concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg/mL. Logo em seguida foi adicionado solução estoque de DPPH[•] (40 µg/mL) com absorvância de 1,00 ± 0,05 e a mistura reacional foi agitada vigorosamente e incubada em temperatura ambiente. A avaliação antioxidante foi realizada em quintuplicata e os valores das absorvâncias foram expressos como porcentagem de inibição da absorvância da solução estoque de DPPH[•].

A concentração efetiva (CE₅₀) necessária para reduzir a absorvância do radical DPPH[•] em 50% a 517 nm foi determinada. O mesmo procedimento foi utilizado com o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (**Figura 7**).

Figura 7 - Capacidade antioxidante contra o radical DPPH[•] da polpa, casca e endocarpo de buriti.



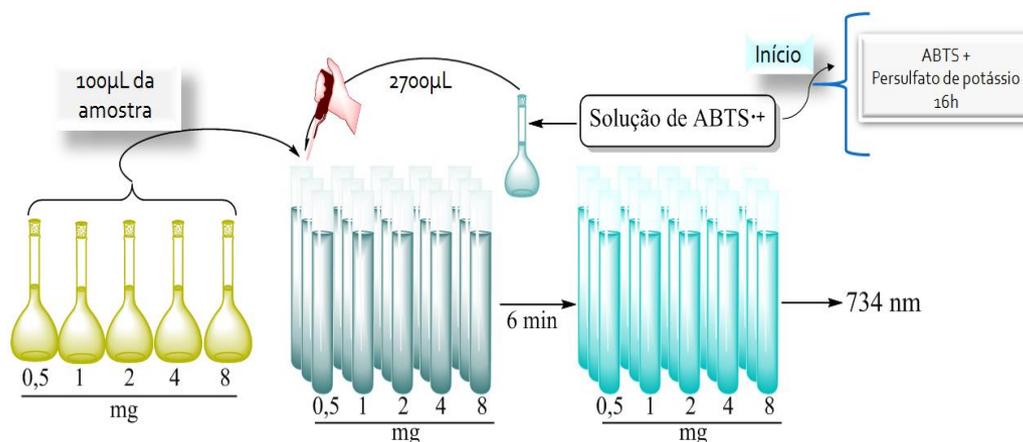
2.7. 2 Determinação da capacidade antioxidante contra o radical ABTS^{•+}

Para o método do ABTS^{•+}, foi utilizada a metodologia descrito por Re et al., 1999 e modificado por Oliveira et al. (2014). Inicialmente foi formado o cátion radical ABTS^{•+} a partir da reação de 5 mL de uma solução 7 mM de ABTS^{•+} com 88 µL de uma solução 2,45 mM de persulfato de potássio (K₂S₂O₈), incubada à temperatura ambiente e na ausência de luz por 16h.

Ao transcorrer esse tempo, a solução de ABTS^{•+} foi diluída em etanol até obter uma solução estoque com absorvância de 1,2 (± 0,05) em 734 nm. Em ambiente escuro e a temperatura ambiente foi transferida uma alíquota de 100 µL da solução aquosa contendo PL, CL e EL nas concentrações de 0,5;1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg/mL para tubos de ensaio com 2700 µL do radical ABTS^{•+}. A leitura da absorvância foi realizada à temperatura ambiente no tempo de 6min em espectrofotômetro a 734 nm e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da absorvância da solução estoque de ABTS^{•+}.

A CE₅₀ da PL, CL e EL necessária para reduzir a absorvância do radical ABTS^{•+} em 50% a 734 nm foi determinada. O mesmo procedimento foi utilizado com o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (**Figura 8**).

Figura 8 - Capacidade antioxidante contra o radical ABTS^{•+} da polpa, casca e endocarpo de buriti.

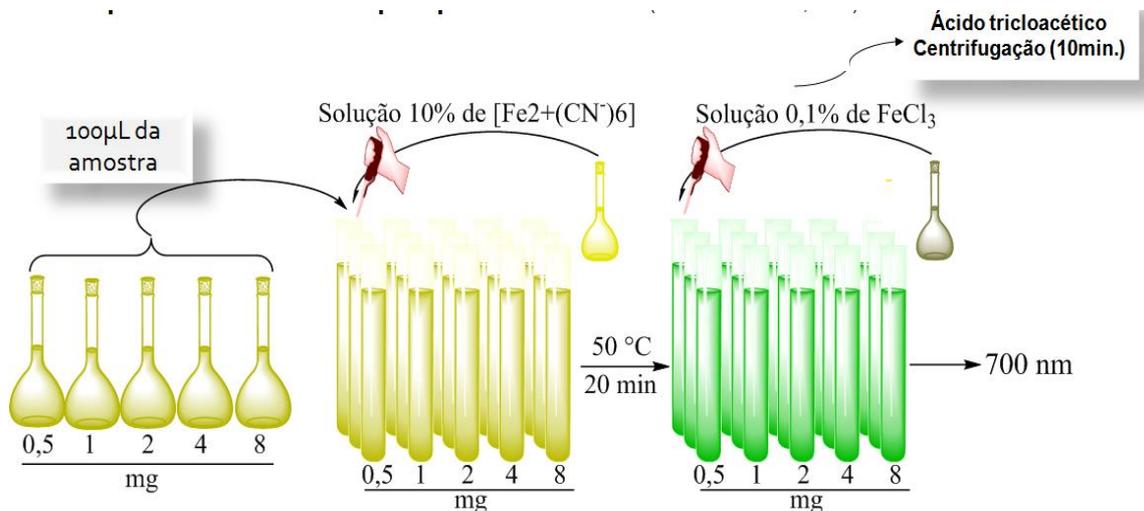


2.7. 3 Determinação da capacidade antioxidante pelo potencial redutor

Para determinação do poder redutor da polpa e demais partes do fruto em estudo, utilizando uma solução aquosa, e por intermédio da redução direta do ferricianeto de potássio $[\text{Fe}^{3+}(\text{CN}^-)_6]$ para ferrocianeto de potássio $[\text{Fe}^{2+}(\text{CN}^-)_6]$, foi utilizada a metodologia descrita por Lopes, Schulman, Lima, 1999, com modificações. Inicialmente, foi preparado uma mistura reacional contendo extrato aquoso de PL, CL e EL nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg/mL, 0,5mL de ferricianeto de potássio 1% e 0,5mL de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 6,6). O controle negativo continha todos os reagentes, exceto as concentrações das amostras em estudo. A mistura reacional foi incubada a 50 °C durante 20min, seguido pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético 10% e centrifugação a 4000 rpm durante 10min. O sobrenadante obtido foi misturado com 0,5mL de água destilada e 150 µL de cloreto férrico (FeCl_3) 0,1%.

Finalmente, a absorbância foi medida a 700 nm em espectrofotômetro, onde o aumento da absorbância demonstra o poder redutor da amostra. A concentração dos extratos aquosos que proporciona um aumento de 0,5 de absorbância (CE_{50}) foi calculada. O mesmo procedimento experimental foi utilizado com o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (**Figura 9**).

Figura 9 - Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti pelo potencial redutor

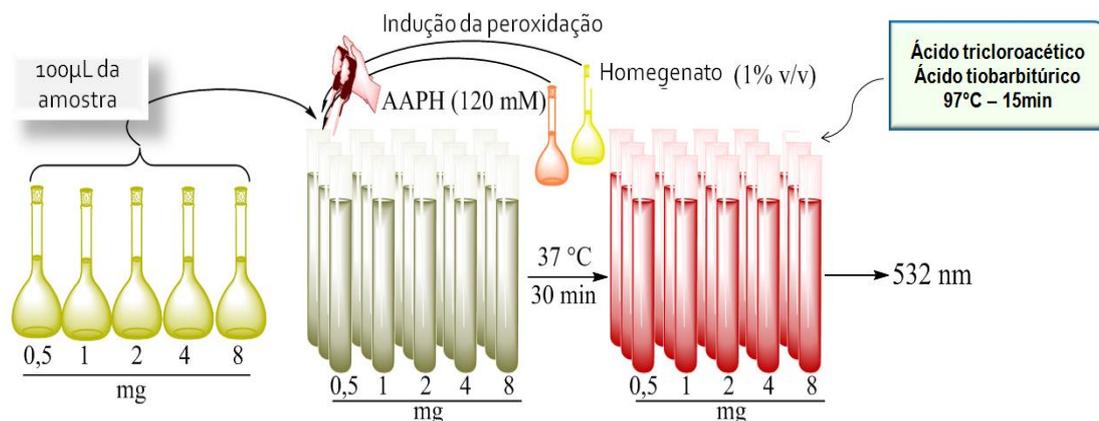


2.7.4 Determinação da capacidade antioxidante contra peroxidação lipídica

Para o método TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico), foi utilizada a metodologia descrito por Esterbauer, Cheeseman, 1990 e modificado por Freitas et al. (2014). Resumidamente, uma alíquota de 0,5 mL de homogenato de gema de ovo (1% v/v em 50 mM de tampão fosfato, pH 7,4) foi misturado com extratos aquoso de PL, CL e EL em várias concentrações (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 mg/mL). A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1 mL de solução de AAPH (120 mM) durante 30 minutos a 37 °C. Subsequentemente, foi adicionado 0,5 mL de ácido tricloroacético (15%), 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico (0,67%) e aquecido a 97 °C por 15min. A mistura reacional resultante foi centrifugado e a absorbância do sobrenadante foi medida a 532nm em espectrofotômetro.

A extensão da peroxidação lipídica foi expresso como porcentagem de inibição dos níveis de TBARS induzido pelo AAPH. A CE_{50} do extrato aquoso de PL, CL e EL necessário para inibir em 50% a formação de TBARS a 532 nm foi determinada. O mesmo procedimento experimental foi utilizado com o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (**Figura 10**).

Figura 10 - Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti contra peroxidação lipídica.

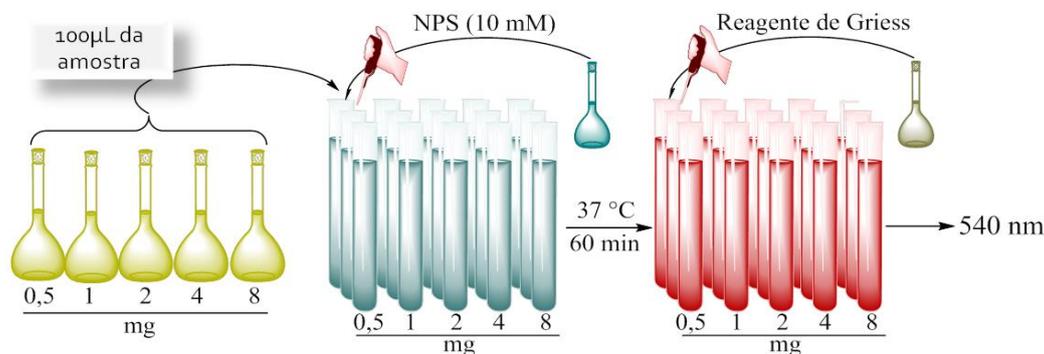


2.7.5 Determinação da capacidade antioxidante contra o óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) foi gerado a partir da decomposição espontânea do nitroprussiato de sódio conforme a metodologia descrito por Basu, Hazra, 2006. Inicialmente, uma mistura reacional contendo 1mL de solução estoque de nitroprussiato de sódio em tampão fosfato 10mM (pH 7,4) e a solução aquosa contendo PL, CL e EL em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 mg/mL) foi colocado em banho maria a 37 °C durante uma hora. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 4min a 4000 rpm e uma alíquota de 0,5 mL da mistura reacional foi retirada e misturada com 0,5mL de reagente de Griess.

A absorvância foi medida a 540 nm usando espectrofotômetro e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da formação de íons nitrito a partir da solução estoque de nitroprussiato de sódio. As CE_{50} de extrato aquoso de PL, CL e EL necessário para inibir o óxido nítrico em 50% a 540 nm, foram determinados. O mesmo procedimento experimental foi utilizado com o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (**Figura 11**).

Figura 11 - Capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti contra o óxido nítrico.



2.7.6 Determinação da capacidade antioxidante em eritrócitos – *ex vivo*

Amostras de sangue e preparo dos eritrócitos

O sangue foi coletado em tubos heparinizados a partir do plexo retro-orbital de *Ratos Wistar* fêmeas (180 - 220 g), anestesiados com cetamina (100 mg/kg, intraperitoneal). A amostra de sangue obtida passou por 3 centrifugações consecutivas em 2000 rpm pelo tempo de 5min com solução de PBS (NaCl = 8 g/L, KCl = 0,2 g/L, Na₂HPO₄ = 1,44 g/L e KH₂PO₄ = 0,24 g/L; pH 7,4) para remoção do sobrenadante (plasma e células brancas) e obtenção dos eritrócitos (FREITAS et al., 2014). Os eritrócitos obtidos com esse procedimento foram finalmente suspensos em PBS para obtenção da suspensão de células em 10%. Todas as etapas experimentais em animais foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (CEEA/UFPI N° 054/14).

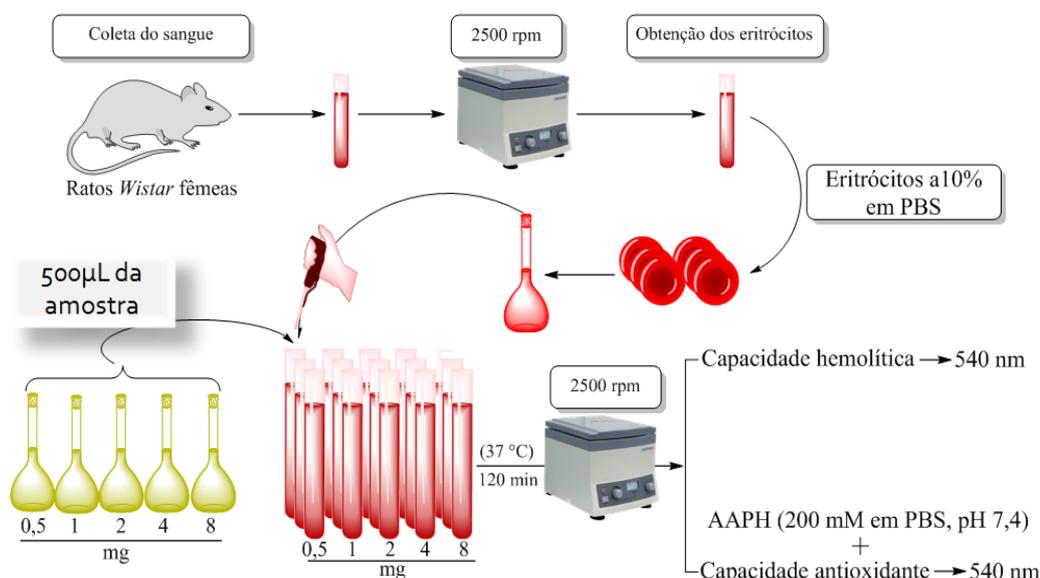
Determinação da capacidade hemolítica

A capacidade hemolítica pela interação das soluções aquosas de PL, CL e EL com eritrócitos foi avaliado como descrito previamente por Freitas et al. (2014), com modificações. Resumidamente, 300 µL da suspensão de eritrócitos 10% foi misturada com 500 µL de cada amostra, em concentrações de 0,5 a 8,0 mg/mL, logo em seguida foram colocados em banho maria em 37 °C por 120 min. Após o tempo de reação, a mistura reacional foi centrifugada em 4000 rpm durante 5 min e a absorbância do sobrenadante foi medida em 540 nm (**Figura 12**). Para comparação, o mesmo procedimento experimental foi realizado para o controle positivo Triton X-100 (0,5 mg/mL).

Determinação da capacidade antioxidante contra hemólise oxidativa

A metodologia descrita por Freitas et al. (2014) foi utilizada para avaliar capacidade antioxidante pela inibição da hemólise oxidativa induzida por radicais peroxila gerado pela decomposição térmica do AAPH. Resumidamente, alíquotas de extratos aquosos de PL, CL e EL, nas concentrações de 0,5 - 8,0 mg/mL, foram misturadas com 300 μ L de suspensão de eritrócitos 10% e adicionado 500 μ L do AAPH (200 mM em PBS, pH 7,4). A mistura reacional foi incubada em 37 °C pelo tempo de 120 min. Após o intervalo de reação, a mistura reacional foi diluída com 2400 μ L de PBS seguida pela centrifugação em 2000 rpm durante 5 min para determinar a taxa de hemólise em 540 nm. Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da hemólise em relação a hemólise completa da suspensão de eritrócitos induzido pelo AAPH. O mesmo procedimento experimental foi utilizado para o controle positivo Trolox (0,5 mg/mL) (Figura 12).

Figura 12 – Capacidade antioxidante em eritrócitos – estudo *ex vivo*



3 Análise Estatística

Os dados numéricos foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M). A análise estatística foi realizada utilizando *one way* ANOVA seguido pelo teste *Newman-Keuls* como *post hoc* teste. Valores de CE_{50} foram calculados por regressão não linear com um intervalo de confiança de 95%. A estatística de correlação entre os dados experimentais foi realizada pela obtenção do coeficiente de

Pearson (r). Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando *GraphPad Prism 6.02* (San Diego, CA, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Compostos bioativos

Os resultados da triagem dos compostos bioativos (CB) de partes do fruto de buriti estão descritos na **Tabela 1**. A casca foi a amostra que apresentou maiores valores para fenóis, flavonoides, carotenoides e taninos, quando comparado com a polpa e o endocarpo ($p < 0,05$). E na polpa, houve predominância de todos os CB avaliados em relação ao EL ($p < 0,05$), exceto para fenóis totais, encontrado em menor proporção na polpa liofilizada.

Tabela 1 - Quantificação (mg/100g amostra) de fenóis, flavonoides, carotenoides, taninos condensados e hidrolisados em extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo liofilizados de buriti.

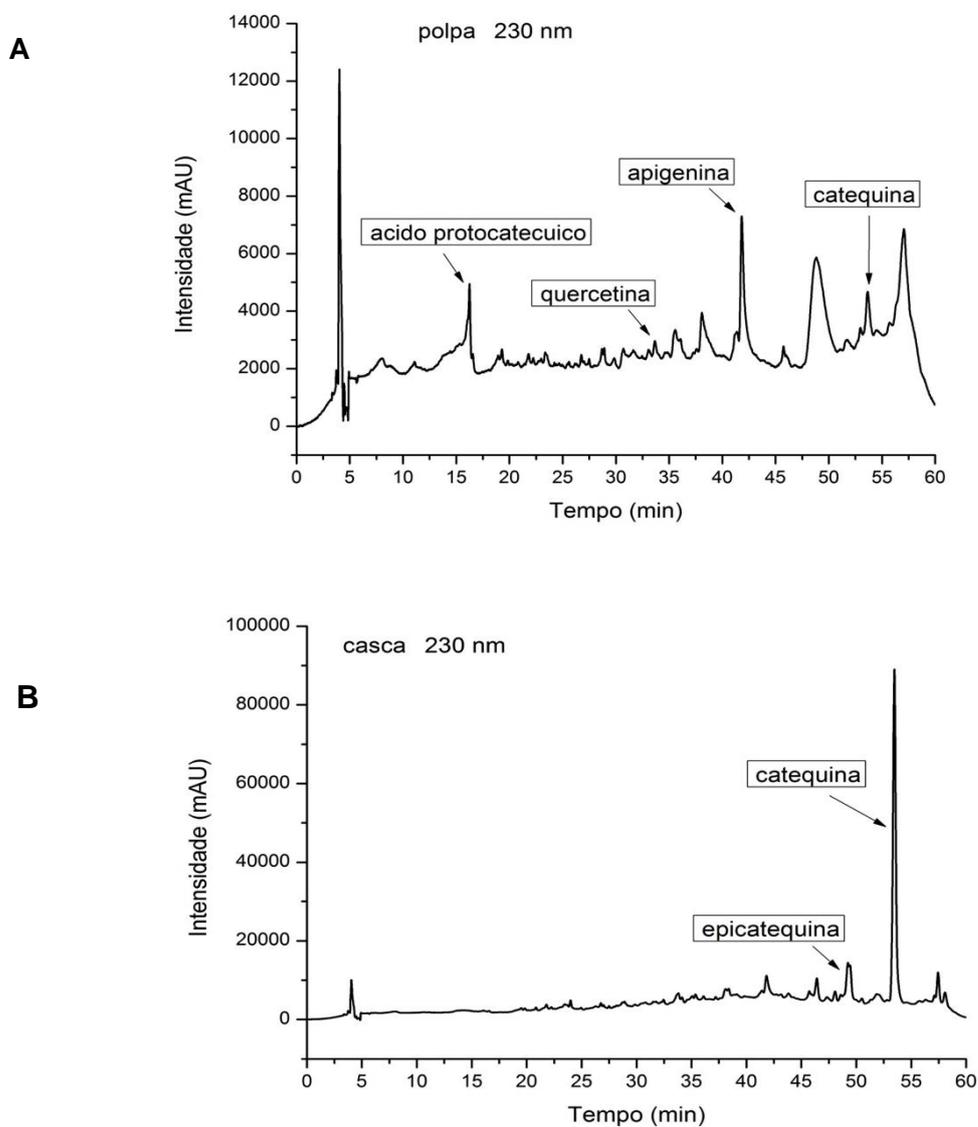
Classe dos compostos *	Polpa	Casca	Endocarpo
Fenois totais (mg EAG/100 g AM)	553,5 ± 7,7 ^b	1288,0 ± 10,4 ^{a,c}	597,1 ± 6,5 ^b
Flavonoides totais (mg EQE/100 g AM)	264,4 ± 2,1 ^{b,c}	339,4 ± 3,9 ^{a,c}	145,4 ± 10,2 ^{a,b}
Carotenoides totais (mg βCTE/100 g AM)	58,9 ± 0,1 ^{b,c}	88,3 ± 0,3 ^{a,c}	19,1 ± 0,2 ^{a,b}
Taninos hidrolisáveis (mg ACT/100g AM)	47,4 ± 0,3 ^{b,c}	56,1 ± 0,4 ^{a,c}	0,1 ± 0,0 ^{a,b}
Taninos condensados (mg CTQ/100g AM)	69,6 ± 1,8 ^{b,c}	118,3 ± 2,1 ^{a,c}	36,5 ± 1,2 ^{a,b}

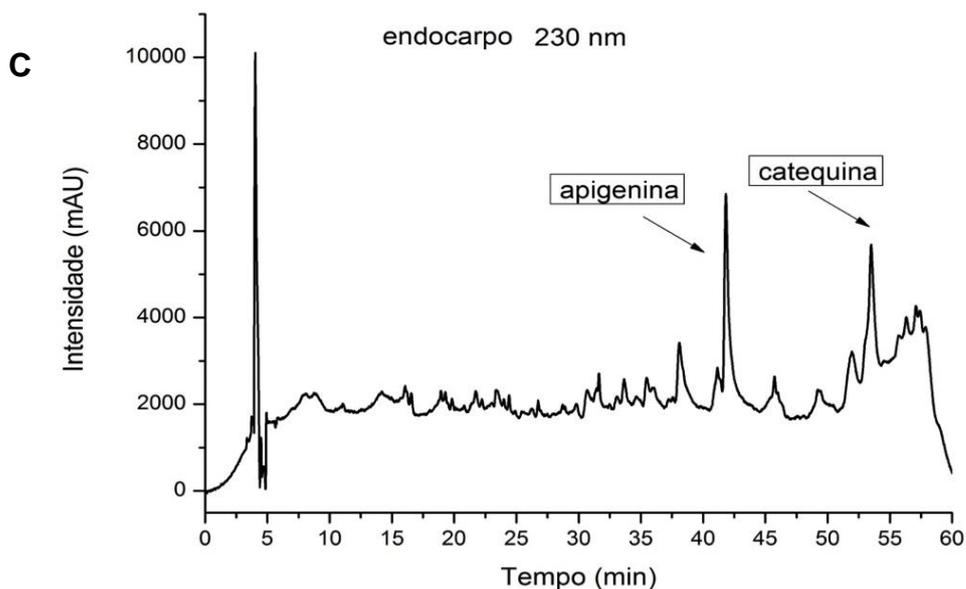
Os valores representam a média ± E.P.M. ^a $p < 0,05$ em relação à polpa (0,5 mg/mL). ^b $p < 0,05$ em relação à casca (0,5 mg/mL). ^c $p < 0,05$ em relação ao endocarpo (0,5 mg/mL) (ANOVA e *Neuman-Keuls* como post hoc teste).

4.2 Caracterização fitoquímica por HPLC das amostras de buriti

Os resultados da caracterização fitoquímica de extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo de buriti, identificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, estão descritos nos cromatogramas das **Figuras 13 (A, B e C)** e **Tabela 2**. Os cromatogramas foram obtidos no comprimento de onda de detecção de 230 nm, visto que, nele os compostos fenólicos apresentam os máximos de absorção, além da obtenção de melhores perfis cromatográficos.

Figura 13 - Perfil cromatográfico obtido por CLAE-DAD para (A) extrato metanólico de polpa, (B) casca e (C) endocarpo (230 nm).

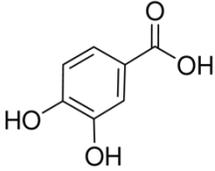
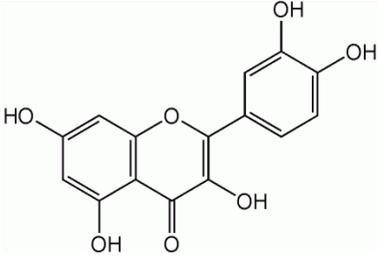
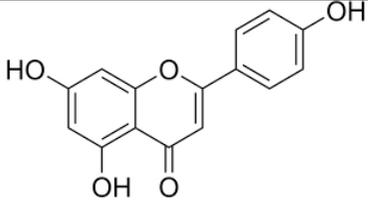


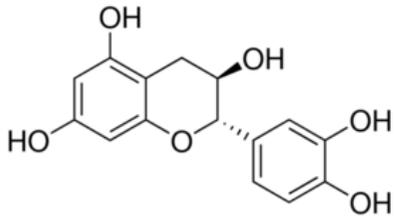
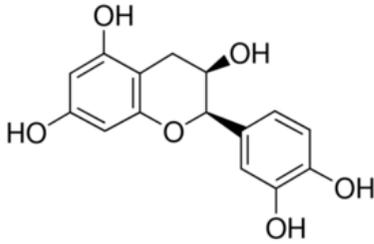


Fonte: autoria própria

A correlação dos picos cromatográficos foi obtida pela comparação dos tempos de retenção (tR) com padrões de referência. Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicata e revelaram compostos fenólicos (ácido protocatecuico, quercetina, apigenina, catequina e epicatequina) com os seguintes tR: 16,3, 33,6, 41,7, 53,6 e 49,3 minutos, respectivamente (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Identificação de compostos por HPLC em amostras de partes do fruto de buriti.

Nome IUPAC	Estrutura química	Classe	Tempo de Retenção (min)	Amostra
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico (ácido protocatecúico)		Fenol	16,3	Polpa
2-(3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxichromen-4-ona (quercetina)		Flavonoide	33,6	Polpa
4',5,7-trihidroxiflavona (apigenina)		Flavonoide	41,7	Polpa Endocarpo

<p>(-)-<i>trans</i>-3,3',4',5,7-pentahidroxi flavona, (2<i>S</i>,3<i>R</i>)-2-(3,4-dihidroxifenil)-3,4-dihidro- 1(2<i>H</i>)-benzopiran-3,5,7-triol (catequina)</p>		<p>Tanino Condensado</p>	<p>53,6</p>	<p>Endocarpo Casca Polpa</p>
<p>(-)-<i>cis</i>-3,3',4',5,7-pentahidroxi flavona, (2<i>R</i>,3<i>R</i>)-2-(3,4-dihidroxifenil)-3,4-dihidro- 1(2<i>H</i>)-benzopiran-3,5,7-triol (epicatequina)</p>		<p>Tanino condensado</p>	<p>48,3</p>	<p>Casca</p>

4.3 Determinação dos fenóis totais antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Os valores médios encontrados para compostos fenólicos totais antes e após a digestão gastrointestinal simulada *in vitro* para polpa, casca e endocarpo de buriti estão apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Valores médios e percentuais de compostos fenólicos totais da polpa, casca e endocarpo de buriti, antes e após digestão gastrointestinal simulada *in vitro*.

Amostras	Inicial (mg/L)	Bioacessibilidade após digestão (mg/L)	Bioacessibilidade após digestão (%)
Polpa	553,5 ± 7,7 ^c	102,2 ± 0,4 ^c	18,5 ^c
Casca	1288,0 ± 10,4 ^a	498,5 ± 14,0 ^a	38,7 ^a
Endocarpo	597,1 ± 6,5 ^b	133,4 ± 7,8 ^b	22,3 ^b

Valores representam a média ± E.P.M. Letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes pelo teste Tukey ($p < 0,05$). (*) produtos liofilizados.

4.4 Capacidade antioxidante *in vitro*

4.4.1 Capacidade antioxidante contra o radical DPPH'

O resultado correspondente à capacidade antioxidante de PL contra o radical DPPH' nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg/mL foram de 41,9 ± 0,3; 45,4 ± 0,3; 54,9 ± 0,2; 66,2 ± 0,0 e 75,0 ± 0,3%, respectivamente. Nas mesmas concentrações, os resultados para CL foram de 71,0 ± 0,8; 87,7 ± 0,4; 93,9 ± 0,3; 95,5 ± 0,1 e 96,9 ± 0,2% para a capacidade antioxidante. Ao realizar a avaliação da capacidade antioxidante do EL contra o radical DPPH' utilizando as mesmas concentrações que PL e CL, os resultados foram de 38,8 ± 1,1; 46,0 ± 0,3; 51,9 ± 0,8; 57,0 ± 1,4 e 66,9 ± 1,2% (**Figura 14A**).

Quando comparado o resultado antioxidante das amostras da *M. flexuosa* com o sistema reacional, foi observado diferença estatística em relação aos resultados obtidos para PL, CL e EL em todas as concentrações avaliadas ($p < 0,05$). De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na inibição do radical DPPH', os valores da CE₅₀ foram de 1,6 ± 0,02 mg/mL, 0,1 ± 0,01 mg/mL e 1,5 ± 0,02 mg/mL para a PL, CL e EL, respectivamente.

4.4.2 Capacidade antioxidante contra o radical ABTS^{•+}

O resultado correspondente à capacidade antioxidante do extrato aquoso de PL contra o radical ABTS^{•+} nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL foram de 25,6 ± 0,1; 34,1 ± 0,2; 39,5 ± 0,3; 60,0 ± 0,4 e 76,7 ± 0,4%, respectivamente. Como demonstrado na **Figura 14B**, o extrato aquoso de CL apresentou capacidade antioxidante de 66,8 ± 0,7; 75,7 ± 0,5; 82,4 ± 0,3; 86,5 ± 0,6 e 89,9 ± 0,3%. Já o EL obteve os resultados de 32,5 ± 0,2; 35,7 ± 0,38; 46,2 ± 1,5; 63,3 ± 0,6 e 77,9 ± 0,3% para a capacidade antioxidante usando as mesmas condições experimentais que polpa e casca liofilizada.

Ao realizar a comparação do resultado antioxidante apresentado pelo sistema reacional com os resultados das amostras da *M. flexuosa*, foram observadas diferenças estatísticas em relação aos resultados obtidos para PL, CL e EL em todas as concentrações avaliadas ($p < 0,05$). De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na inibição do radical ABTS^{•+}, os valores da CE₅₀ foram de 2,3 ± 0,03 mg/mL, 0,1 ± 0,01 mg/mL e 1,8 ± 0,03 mg/mL para a PL, CL e EL, respectivamente.

4.4.3 Potencial redutor dos extratos aquosos de partes do fruto de buriti

O resultado correspondente a capacidade antioxidante dos extratos aquosos de da PL, CL e EL pelo seu potencial redutor está representado na **Figura 14C**. O aumento da absorbância em 700 nm nas concentrações de 0,5 - 8,0 mg/mL demonstra o potencial redutor dos extratos aquosos de PL, CL e EL. Entretanto, quando comparado o resultado antioxidante apresentado pelo sistema reacional, foi observado diferenças estatísticas em relação aos resultados obtidos para os extratos de PL, CL, e EL em todas as concentrações avaliadas ($p < 0,05$). De acordo com os resultados obtidos, os valores da CE₅₀ dos extratos de PL, CL e EL necessárias para reduzir ferricianeto de potássio (Fe³⁺) à ferrocianeto de potássio (Fe²⁺) em 50% da sua absorbância inicial foram de 2,1 ± 0,3 mg/mL, 1,2 ± 0,02 mg/mL e 1,9 ± 0,4 mg/mL, respectivamente (**Figura 14C**).

4.4.4 Capacidade antioxidante contra a peroxidação lipídica

O resultado da PL correspondente a inibição da peroxidação lipídica pela inibição de TBARS nas concentrações de 0,5 - 8,0 mg/mL foi de 21,2 ± 0,6; 46,7 ± 0,4; 62,8 ± 0,5; 78,7 ± 0,2 e 82,6 ± 0,2%. O resultado da CL para a capacidade antioxidante foi de 24,9 ± 0,3; 77,9 ± 0,6; 81,8 ± 0,4; 93,4 ± 0,3 e 95,4 ± 0,1%. Em

relação ao resultado de EL, a capacidade antioxidante foi de $15,5 \pm 0,4$; $24,6 \pm 1,2$; $51,8 \pm 1,4$; $75,1 \pm 0,2$ e $78,8 \pm 0,5\%$. O Trolox na concentração de 0,5 mg/mL apresentou capacidade antioxidante de $92,9 \pm 0,4\%$. Todos os resultados estão demonstrados na **Figura 14D**.

Diferenças estatísticas em relação aos resultados obtidos para os extratos aquosos de PL, CL e EL foram observadas em todas as concentrações avaliadas ($p < 0,05$) quando comparado ao meio reacional. De acordo com os resultados de inibição da peroxidação lipídica, os valores da CE_{50} foram de $1,6 \pm 0,2$ mg/mL, $0,7 \pm 0,1$ mg/mL e $2,3 \pm 0,2$ mg/mL para a PL, CL e EL, respectivamente.

4.4.5 Capacidade antioxidante contra o óxido nítrico

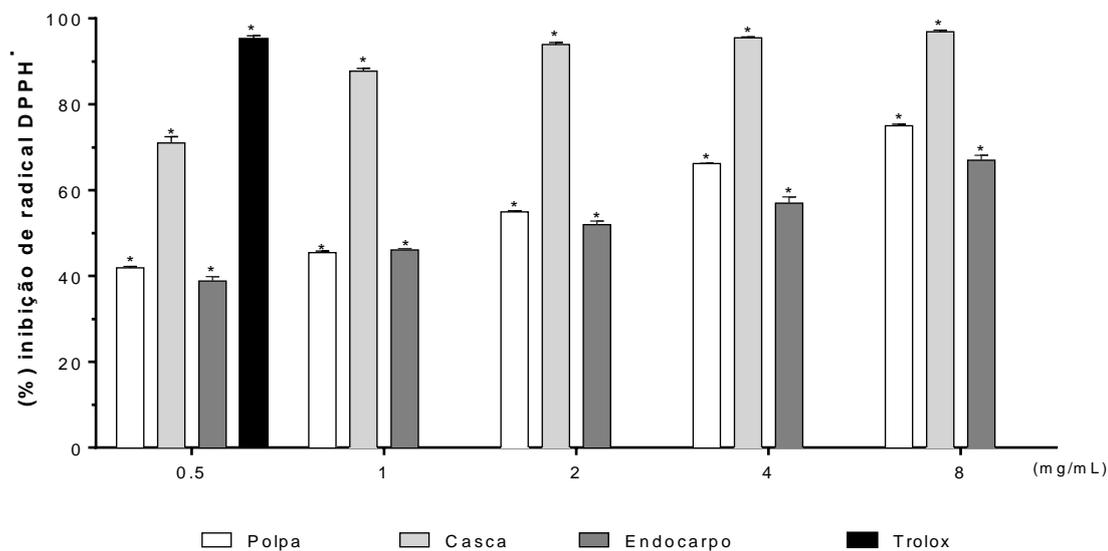
Os resultados da capacidade antioxidante de PL correspondente à inibição do óxido nítrico nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL foram de $24,4 \pm 0,7$; $36,1 \pm 0,34$; $48,8 \pm 1,0$; $56,8 \pm 0,6$ e $64,7 \pm 0,9\%$, respectivamente (**Figura 14E**).

Ao avaliar capacidade antioxidante da CL nas mesmas concentrações, os resultados foram de $29,4 \pm 0,3$; $50,2 \pm 1,0$; $65,5 \pm 0,5$; $80,1 \pm 0,4$ e $86,1 \pm 0,2\%$. O mesmo procedimento experimental realizado para EL nas concentrações citadas anteriormente demonstrou que os resultados antioxidantes foram $15,5 \pm 0,4$; $24,6 \pm 1,2$; $51,8 \pm 1,4$; $75,1 \pm 0,2$ e $78,8 \pm 0,5\%$, nas concentrações de 0,5 – 8,0 mg/mL, respectivamente.

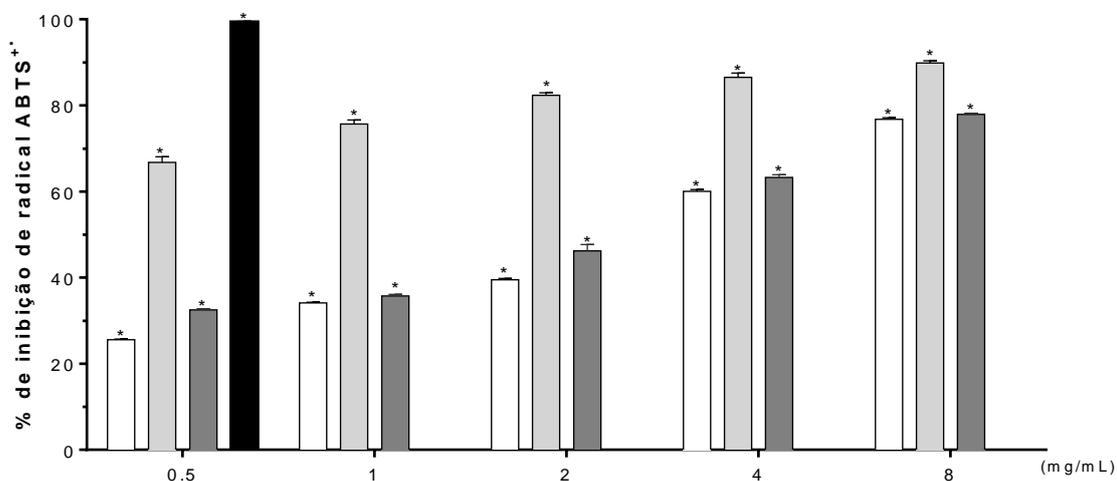
O resultado da capacidade antioxidante apresentado pelo Trolox na concentração de 0,5 mg/mL foi de $88,1 \pm 0,1\%$ e como demonstrado na **Figura 14E**, diferenças estatísticas em relação aos resultados obtidos para PL e EL foram observadas em todas as concentrações avaliadas ($p < 0,05$). Conforme resultados contra a produção de íons nitritos, os valores da CE_{50} foram de $2,6 \pm 0,1$ mg/mL, $1,1 \pm 0,01$ mg/mL e $6,4 \pm 0,14$ mg/mL para PL, CL e EL, respectivamente.

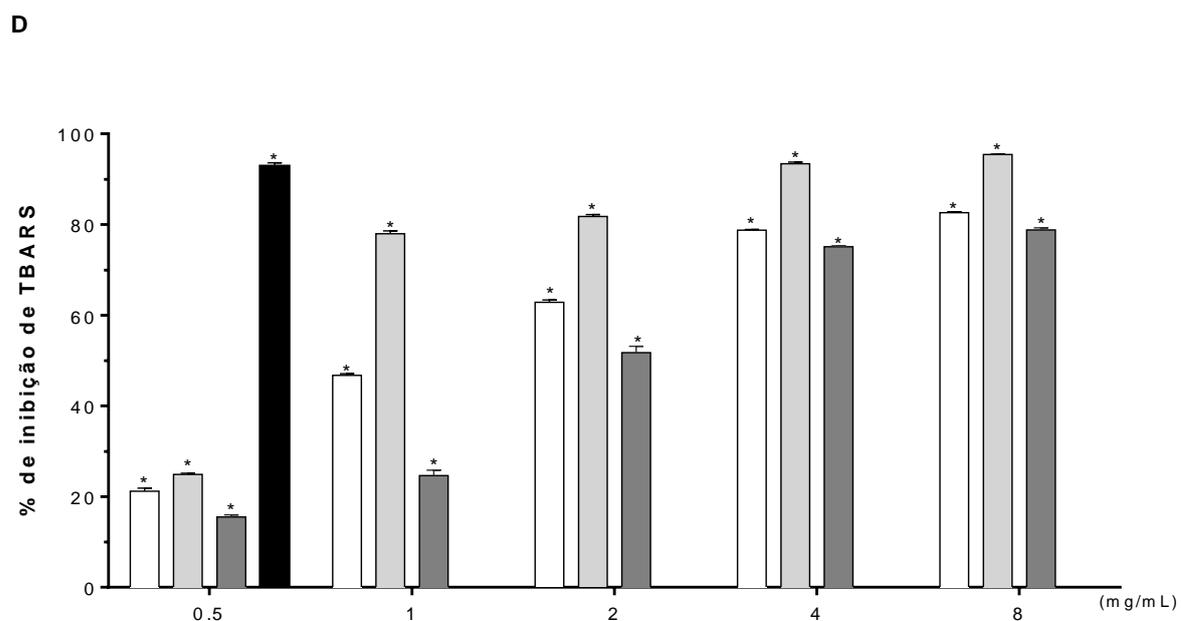
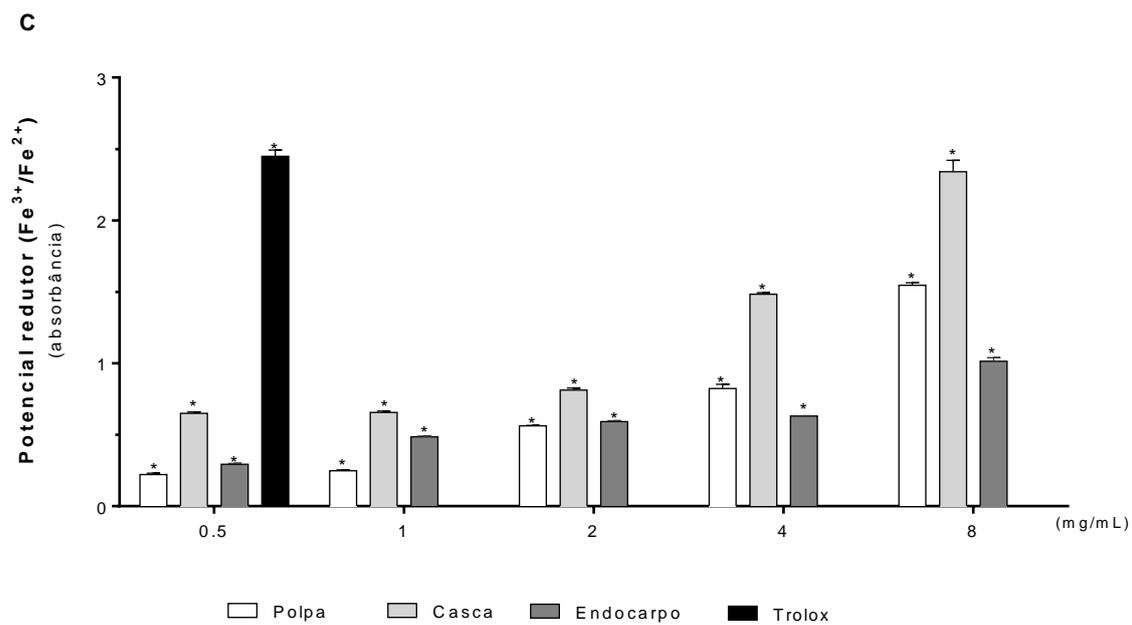
Figura 14 - Capacidade antioxidante dos extratos aquosos de polpa (PL), casca (CL) e endocarpo (EL) em diferentes concentrações (0,5 - 8,0 mg/mL) pela inibição do radical DPPH[•] (A), ABTS (B) e potencial redutor (C), níveis de TBARS (D), contra o óxido nítrico (E) e hemólise oxidativa (F).

A

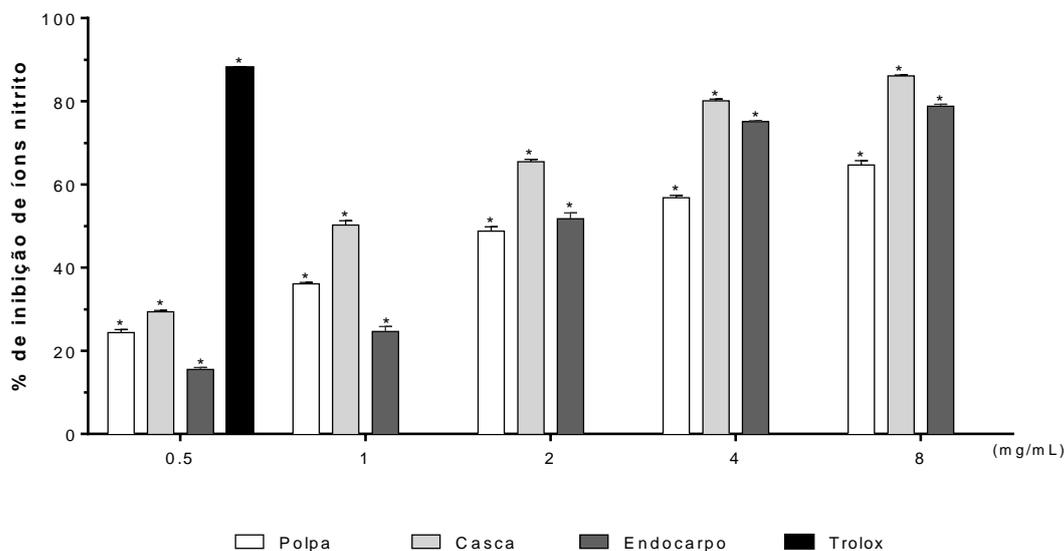


B

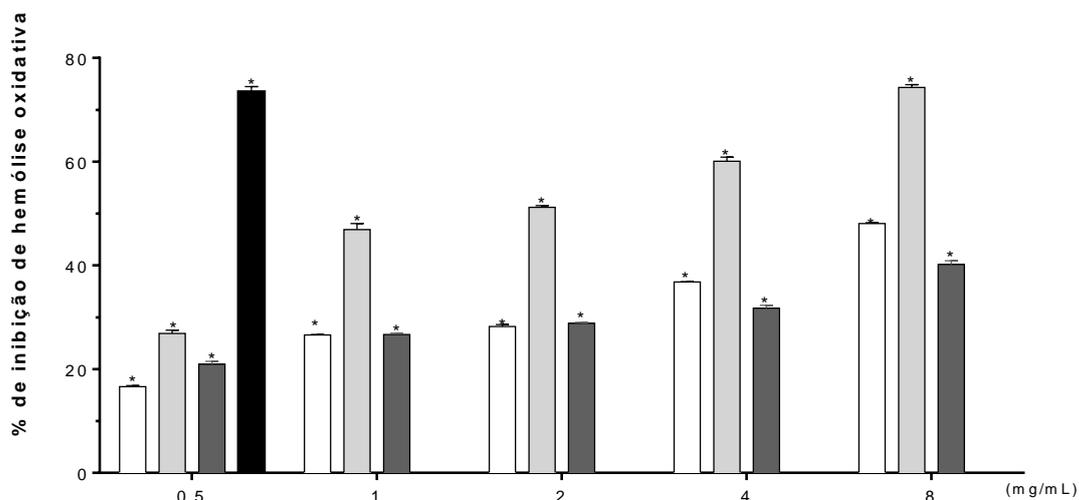




E



F



Legenda: Os valores representam a média \pm E.P.M. de inibição *in vitro* após experimentos em duplicata ($n=5$ / experimento). O Trolox (0,5 mg/mL) foi usado como padrão antioxidante. * $p < 0,05$ comparado ao meio reacional por ANOVA seguido de *Neuman-Keuls*.

4.4.6 Capacidade antioxidante em eritrócitos – estudo *ex vivo*

4.4.6.1 Capacidade antioxidante contra hemólise oxidativa

Os resultados que correspondem à capacidade antioxidante do extrato aquoso de PL contra hemólise oxidativa nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0 mg/mL foram de $16,6 \pm 0,2$; $26,6 \pm 0,1$; $28,2 \pm 0,4$; $36,8 \pm 0,03$ e $48,1 \pm 0,7\%$,

respectivamente. Como demonstrado na **Figura 14F**, a CL obteve os resultados de $26,9 \pm 0,6$; $46,9 \pm 1,2$; $51,2 \pm 0,3$; $60,1 \pm 0,8$ e $74,3 \pm 0,5\%$ para a capacidade antioxidante. Ao realizar a avaliação da capacidade antioxidante do extrato de EL nas concentrações citadas anteriormente, os resultados foram de $19,6 \pm 1,7$; $25,7 \pm 0,9$; $28,5 \pm 0,3$; $31,8 \pm 0,5$ e $40,2 \pm 0,7\%$.

No teste de hemólise oxidativa, o resultado da capacidade antioxidante apresentado pelo Trolox na concentração de 0,5 mg/mL foi de $73,5 \pm 0,5\%$ e diferenças estatísticas em relação aos resultados obtidos para PL, CL e EL foram observadas em todas as concentrações analisadas ($p < 0,05$) nesse teste quando comparado com o meio reacional. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na inibição da hemólise oxidativa, o valor da CE_{50} foi de $7,8 \pm 0,4$ mg/mL, $1,8 \pm 0,04$ mg/mL e $11,4 \pm 0,5$ mg/mL para a PL, CL e EL, respectivamente (**Figura 14F**).

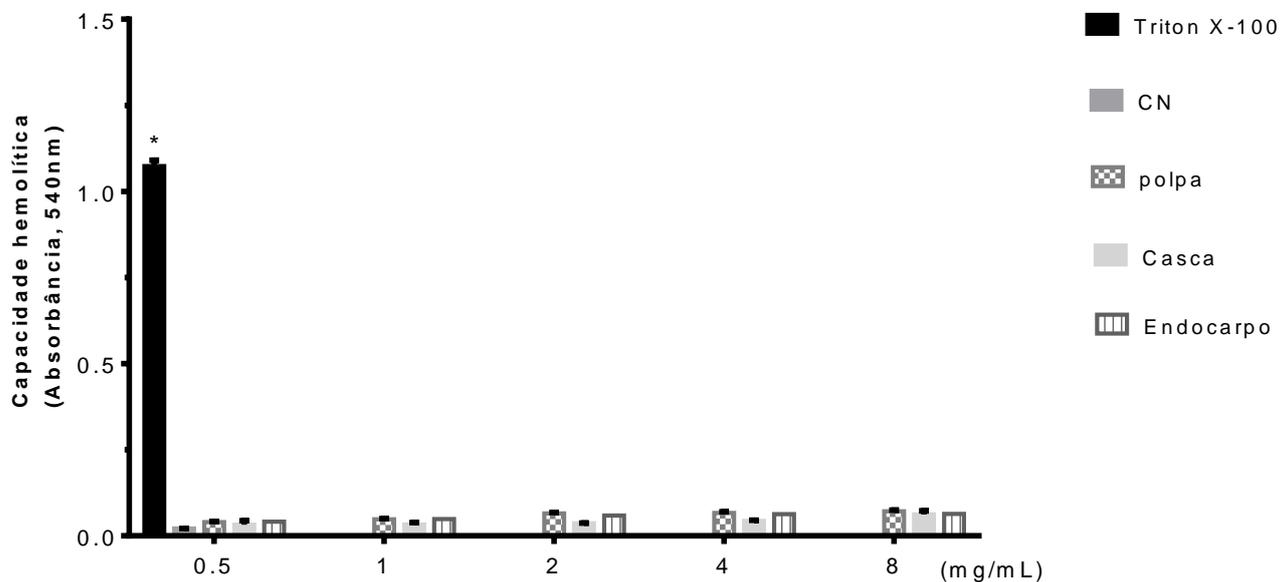
4.4.6.2 Capacidade hemolítica em eritrócitos

Os resultados da capacidade de induzir hemólise em eritrócitos para extratos aquosos de PL, CL e EL nas concentrações 0,5 - 8,0 mg/mL estão representados na **Figura 15**. Foi demonstrado que mesmo com o aumento das concentrações da polpa, casca e endocarpo ($p < 0,05$), estas não apresentaram capacidade hemolítica *ex vivo*, ao comparar com o controle negativo (PBS), de modo que diferenças estatísticas não foram observadas em relação às amostras e o controle negativo em todas as concentrações avaliadas ($p > 0,05$). Enquanto que foi observada elevada taxa hemolítica (100 %) para o controle positivo utilizado no teste de capacidade hemolítica (Triton X-100).

4.5 Correlação entre os compostos bioativos e capacidade antioxidante

A correlação de Pearson, medida da força da relação linear entre duas variáveis, revelou uma relação positiva entre os compostos bioativos (fenois totais, flavonoides totais, carotenoides totais, taninos condensados e hidrolisáveis) e a capacidade antioxidante ($r > 0,881$; $p < 0,05$), assim como em compostos bioativos e a proteção contra hemólise oxidativa ($r > 0,907$; $p < 0,05$) (**Tabela 4**). Por outro lado, a correlação de Pearson não mostrou associação entre atividade antioxidante contra peroxidação lipídica (TBARS) e a presença de compostos bioativos para a maioria das correlações analisadas ($p > 0,05$).

Figura 15 - Capacidade hemolítica dos extratos aquosos de Polpa (PL), Casca (CL) e Endocarpo liofilizados (EL) de buriti, em diferentes concentrações (0,5-8,0 mg/mL).



Legenda: Os valores representam a média \pm E.P.M da hemólise *ex vivo*, $n = 5$, dos experimentos em duplicata. O Triton X-100, na concentração de 0,5 mg/mL foi usado como padrão hemolítico. ^a $p < 0,05$ em relação ao controle negativo (CN = PBS) (ANOVA e *Neuman-Keuls* como post hoc teste).

Tabela 4 - Correlação de Pearson (valores de R²) entre compostos bioativos e capacidade antioxidante da polpa, casca e endocarpo de buriti.

Polpa						
Classe de compostos	DPPH*	ABTS**	Potencial redutor	TBARS	Óxido nítrico	Hemólise oxidativa
Fenóis totais	0,956*	0,978*	0,978*	0,867	0,931*	0,954*
Flavonoides totais	0,957*	0,979*	0,978*	0,869	0,933*	0,956*
Carotenoides totais	0,951*	0,974*	0,975*	0,859	0,926*	0,951*
Taninos condensados	0,955*	0,977*	0,978*	0,866	0,930*	0,954*
Taninos hidrolisáveis	0,923*	0,953*	0,956*	0,822	0,898*	0,935*
Casca						
Fenóis totais	0,681	0,847	0,928*	0,749	0,854	0,907*
Flavonoides totais	0,956*	0,978*	0,978*	0,867	0,931*	0,954*
Carotenoides totais	0,966*	0,984*	0,983*	0,881*	0,941*	0,959*
Taninos condensados	0,963*	0,982*	0,982*	0,876	0,937*	0,957*
Taninos hidrolisáveis	0,972*	0,988*	0,987*	0,890*	0,947*	0,961*
Endocarpo						
Fenóis totais	0,682	0,848	0,930*	0,751	0,854	0,907*
Flavonoides totais	0,951*	0,974*	0,975*	0,860	0,926*	0,952*
Carotenoides totais	0,949*	0,973*	0,974*	0,857	0,924*	0,950*
Taninos condensados	0,952*	0,975*	0,976*	0,861	0,927*	0,952*
Taninos hidrolisáveis	0,948*	0,972*	0,973*	0,855	0,923*	0,950*

*p < 0,05. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado usando *Teste t de Student*, nível de significância de 5% para todas as variáveis. 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH*), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfônico (ABTS**), potencial redutor (Fe³⁺/Fe²⁺), substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico [níveis de TBARS induzido por 2,2'-azo-bis (2-metilpropionamidina)] dihidroclorido, AAPH) e óxido nítrico (induzido por nitroprussiato de sódio).

5 DISCUSSÃO

As espécies vegetais produzem metabólitos secundários pertencentes a diferentes grupos químicos, tais como alcalóides e glicosídeos cianogênicos e compostos não nitrogenados, como taninos, flavonóides, terpenos e antocianinas que apresentam atividade antioxidante (KRISHNAIAH, SARBATLY, NITHYANANDAM, 2011; LÓPEZ-ALARCÓN, DENICOLA, 2013, FARIAS et al., 2013, ARAÚJO et al., 2015, PEREIRA-FREIRE et al., 2016). Atualmente, sabe-se que o dano oxidativo contribui significativamente para o desenvolvimento de patologias, portanto, é essencial a realização de pesquisas capazes de avaliar a ação quimiopreventiva de produtos naturais, de forma que o presente estudo tem uma relevante contribuição científica, pois utilizou diferentes métodos bioquímicos para destacar a ação antioxidante e funcional de frutos de *M. flexuosa*.

A avaliação de compostos bioativos em frutos de *M. flexuosa* revelou que a casca do fruto apresenta valores mais elevados de fenóis (ácido protocatecuico), flavonoides (quercetina, apigenina), carotenoides e taninos (catequina e epicatequina) quando comparados à polpa e endocarpo. De fato, estudos anteriores demonstraram que extratos de polpa de Buriti da região amazônica têm principalmente ácido quínico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, p-Cumárico, protocatecúico, catequina, epicatequina, luteolina, apigenina, miricetina, canferol e quercetina, alguns deles são encontrados também em concentrações mais baixas (BATAGLION et al., 2014). A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) também demonstra que o buriti é uma excelente fonte de carotenóides (44600 µg / 100 g), especialmente α - e β -caroteno e cis- e trans- γ -caroteno, que normalmente são encontrados em cenouras, fonte de vitamina A mais conhecida e aceita pelos consumidores, justificando seu uso no tratamento de hipovitaminose A (LIMA et al., 2009; SANTOS et al., 2015; AQUINO et al., 2015).

Os resultados do *screening* fitoquímico apresentaram diferenças por 100g de material seco, considerando que as amostras de buriti da atual pesquisa foram coletadas em condições naturais do Cerrado brasileiro (um tipo de savana). Porém, a maioria dos estudos revisados apresentou resultados com frutos da região amazônica, essas diferenças podem ser explicadas por variações nas condições do bioma, já que a Amazônia é quente e úmida, enquanto o Cerrado apresenta um clima mais seco. Além disso, o Cerrado é mais ácido e rico em sais de alumínio, o que provavelmente irá gerar maior estresse oxidativo para as plantas que reagem produzindo agentes antioxidantes (CÂNDIDO, SILVA, AGOSTINI-COSTA, 2015).

As substâncias polifenólicas com alta atividade antioxidante *in vitro* não têm necessariamente ações semelhantes após o processo gastrointestinal e a absorção (BRIONES-LABARCA et al., 2011; LIMA et al., 2014). Portanto, verificamos a bioacessibilidade de compostos fenólicos nos extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo de buriti. Para isso, utilizamos metodologia *in vitro*, que recentemente ganhou muita atenção, porque simula o processo de digestão gastrointestinal, permitindo assim estudar as mudanças que ocorrem nos componentes da dieta durante a digestão gástrica e intestinal. Além disso, as técnicas *in vitro* têm a vantagem de substituir os animais e são eficientes em termos de tempo, requerem menos mão-de-obra e custo efetivo (TAGLIAZUCCHI et al., 2010; PALAFOX-CARLOS et al., 2011; LIMA et al., 2014). Os resultados dessa pesquisa em extratos metanólicos de *M. flexuosa* mostraram redução de polifenóis bioacessíveis após simulação de digestão, variando de 18,7 (polpa) a 38,7% (casca), entretanto é necessário mais estudos para determinar como o processo de digestão afeta a estabilidade e propriedades químicas destes compostos.

É importante notar que somente os nutrientes solubilizados da matriz alimentar que não são destruídos durante a digestão gastrointestinal são bioacessíveis e potencialmente biodisponíveis (PARLA, AGUILERA, 2007; TAGLIAZUCCHI et al., 2010), uma vez que os componentes da fibra dietética não são absorvidos, mas atingem o intestino grosso e fornecem o substrato para a digestão intestinal. As fibras solúveis são normalmente fermentadas rapidamente, enquanto as insolúveis são lentas ou apenas parcialmente fermentadas. A fermentação é realizada por bactérias anaeróbias do cólon (gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, por exemplo), levando à produção de ácido lático, ácidos graxos de cadeia curta e gás, eventos que podem alterar os componentes dos alimentos e sua biodisponibilidade (SAAD, 2006). Embora os frutos de *M. flexuosa* tenham sido associados a múltiplas propriedades nutricionais que podem ser favoráveis à saúde humana, suas fibras e polifenóis podem se ligar a compostos macromoleculares que não são dialisáveis ou geram complexos minerais, diminuindo ainda mais a solubilidade e a bioacessibilidade de compostos como os fenóis (MANHÃES, SABAA-SRUR, 2011; BOUAYED, HOFFMANN, BOHN., 2011). Além disso, como o processo de diálise durante a digestão gastrointestinal *in vitro* separa substâncias bioativas, isso pode interferir com a atividade biológica e a quantidade de compostos fenólicos, que podem trabalhar mais eficientemente em conjunto do que individualmente como sinergistas para reduzir os radicais livres (GAWLIK-DZIKI et al., 2012).

Lima et al. (2014) ao trabalharem com frutos de *Anacardium occidentale* L., outra delícia natural típica do Nordeste brasileiro, conhecida como "caju", "acajuíba" e "açajaíba",

mais popularmente aceita, estudada e economicamente explorada que a *M. flexuosa*, mostrou também uma perda considerável de compostos fenólicos no suco integral de caju e na fibra de caju após os testes de bioacessibilidade *in vitro*, isso se deve principalmente ao tipo de elementos da matriz alimentar, que reflete sobre a porcentagem de absorção gastrointestinal de compostos fenólicos.

A atividade antioxidante *in vitro* baseia-se principalmente em ensaios químicos que avaliam a capacidade de uma substância em reduzir a concentração de radicais livres em meio de reação específico (BADARINATH et al., 2010; CAROCHO, FERREIRA, 2012). Em nossa pesquisa foram realizados métodos para determinar a capacidade antioxidante das amostras de polpa, casca e endocarpo de buriti *in vitro*, e foi possível observar que o fruto da *M. flexuosa* é rico em compostos antioxidantes (compostos fenólicos e carotenoides). Em primeiro lugar, utilizou-se o método DPPH, uma vez que se trata de um ensaio rápido, simples, preciso e barato para medir a capacidade de diferentes compostos como sequestradores de radicais livres ou doadores de hidrogênio, e para avaliar a atividade antioxidante de substâncias naturais independente da solubilidade da amostra (MARXEN et al., 2007, FARIAS et al., 2013). No teste ABTS, o ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6) é convertido em seu radical (ABTS • +) por adição de persulfato de sódio que é reativo com a maioria dos antioxidantes, podendo ser usado para determinar a capacidade antioxidante de materiais hidrofílicos e hidrofóbicos (LÓPEZ-ALARCÓN, DENICOLA, 2013).

Nesse contexto, e seguindo uma linha de pesquisa para investigar a capacidade antioxidante de nossas amostras, também foi realizado ensaio de poder redutor, que ocorre pela transformação do ferricianeto de potássio $[Fe^{3+}(CN^{-})_6]$ de cor amarela à ferrocianeto de potássio $[Fe^{2+}(CN^{-})_6]$ de cor verde (MACHADO et al., 2015). Os flavonoides e ácidos fenólicos de ocorrência em plantas medicinais possuem elevada capacidade antioxidante, que depende do seu potencial para formar o complexo com átomos de metal, particularmente ferro e cobre. Este método baseia-se no princípio do aumento da absorvância das misturas reacionais (LOPES, SCHULMAN, LIMA, 1999). Vale ainda destacar que, essa mudança de cor ocorre por meio da capacidade de transferência de elétrons, na qual, serve como um importante indicador da capacidade antioxidante apresentado pelas amostras de nosso estudo (PL, CL e EL).

Adicionalmente, a peroxidação lipídica foi determinada pela remoção de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico). Uma vez que os ácidos graxos poli-insaturados são alvos fáceis para os oxidantes e o processo de peroxidação lipídica é, uma vez iniciado, um processo auto-sustentável de formação de radicais livres em cadeia. De modo que o acúmulo de produtos de peroxidação lipídica fornece o marcador bioquímico

mais comum do estresse oxidativo (ESTERBAUER, CHEESEMAN, 1990, GUIMARÃES et al., 2010) e finalmente, a determinação da capacidade antioxidante contra o óxido nítrico foi realizada com base na decomposição espontânea do nitroprussiato de sódio em óxido nítrico em pH fisiológico e condições aeróbias, que produzem nitritos (GREEN, TANNENBAUM, GOLDMAN, 1981; BASU, HAZRA, 2006). Foi importante realizar a avaliação das amostras de polpa, casca e endocarpo de buriti contra radicais livres (ROS/RNS), uma vez que esses radicais podem causar danos a componentes biológicos como o aminoácido aromático tirosina e bases de DNA, particularmente em guaninas, por nitração ou hidroxilação (CAROCHO, FERREIRA, 2012).

As amostras de Buriti apresentaram capacidade antioxidante, mas os extratos de casca foram mais ativos para todos os parâmetros analisados. Koolen et al (2013a) também demonstraram potencial antioxidante em folhas (pelo método FRAP - redução de ferro) e polpas de frutas (método DPPH) da *Mauritia flexuosa*. As diferenças na ação antioxidante encontradas estão provavelmente associadas a concentrações distintas dos constituintes químicos em cada parte da planta, principalmente flavonoides e antocianinas (FERREIRA et al., 2011). Assim, há uma enorme possibilidade de que esse efeito se repita em frutos de buriti oriundos de diferentes regiões brasileiras, uma vez que a *M. flexuosa* no bioma "Cerrado" está exposto a uma maior incidência de luz solar e um solo de clima seco (MORI et al., 2007; CANDIDO, SILVA, AGOSTINI-COSTA, 2015). Autores sugerem que as condições climáticas interferem na constituição química, bem como na caracterização física dos frutos, com valores médios de 22,1 - 25,1, 11 - 24,2, 21,0 e 32,6 - 63,9%, para cascas, polpa, endocarpo e sementes, respectivamente (BARBOSA et al., 2009; CARNEIRO, CARNEIRO, 2011).

Conforme nossos achados e revisão científica, foi relatado pela primeira vez, a maior presença de compostos fenólicos (57,0 e 53,6%), flavonoides (22,1 e 57,2%) e taninos (hidrolisáveis: 15,7 e 99,8%, condensados: 41,1 e 69,1%) e posteriormente, melhor capacidade antioxidante no extrato metanólico de cascas quando comparado com extratos de polpa e endocarpo do fruto de buriti do Cerrado brasileiro, respectivamente. É de notar que, tipicamente, os fenóis e carotenóides são encontrados em concentrações mais elevadas nas cascas, devido à sua pigmentação, regulação da atividade enzimática e proteção contra a luz solar e microrganismos patogênicos (SAINI, NILE, PARK, 2015; MURKOVIC, 2016).

Para o fruto de *M. flexuosa*, este tipo de proteção é necessário e pode ser uma razão para a maior concentração de compostos bioativos encontrados na casca do que na polpa e no endocarpo. Utilizando a correlação de *Pearson*, encontramos um bom índice de

correlação entre os compostos bioativos e a capacidade antioxidante de polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa*, que apóiam a sugestão de que a proteção contra a hemólise oxidativa está diretamente associada aos níveis de substâncias bioativas.

Como os extratos vegetais são ricos em diferentes classes de compostos bioativos que podem atacar ou interagir com membranas celulares, o ensaio de hemólise é freqüentemente usado para testar materiais, compostos ou mistura de compostos a pHs definidos que imitam ambientes extracelulares. Assim, a avaliação da estabilidade da membrana durante a exposição a produtos fitoterápicos deve ser rotineiramente considerada na sua avaliação, uma vez que o consumo desses produtos está aumentando globalmente e pode constituir um grave problema de saúde pública. Assim, a estabilidade da membrana representa a capacidade desse complexo biológico em manter sua estrutura sob condições caotrópicas, tais como hipotonicidade, pHs extremos, calor, presença de solutos (como etanol, uréia e guanidina) e estresse oxidativo (SANTOS et al., 2010; CARVALHO et al., 2013; CERIELLO, TESTA, GENOVESE, 2016). Quando submetidos aos ensaios de células, nenhuma das amostras de Buriti causou lise nos eritrócitos de ratos *Wistar* fêmeas. Por outro lado, as células sanguíneas tratadas com os radicais peróxilas revelaram hemólise intensa, diferente do que aconteceu com os extratos de polpa, casca e endocarpo. Novamente, melhores resultados ($p > 0,05$) foram encontrados com casca, em que a CE_{50} para proteção celular em hemólise oxidativa foi de $1,8 \pm 0,1$ mg/mL.

Ao observar os cromatogramas dos extratos metanólicos de polpa, casca e endocarpo de buriti, foi identificado compostos fenólicos de grande relevância, como o ácido protocatecuico (na polpa), que Bataglioni et al. (2014) já o identificou em frutos de buriti e o caracterizou com atividade hipoglicemiante, além de apresentar-se como protetor para resistência à insulina usando células de adipócitos humanos (SCAZZOCCHIO et al., 2015).

Os extratos dos frutos de *M. flexuosa* não apresentaram atividade hemolítica, estando associado à estabilização osmótica de eritrócitos. É possível que a exacerbação das ligações de *Van der Waals* dentro da bicamada lipídica possa ser uma fonte de estabilização da membrana, embora essa proteção da membrana esteja normalmente relacionada à prevenção da lipoperoxidação desencadeada por metabólitos secundários como flavonoides e fenóis que podem ser incorporados nas membranas eritrocitárias (CHAUDHURI et al., 2007; ROSELLI et al., 2007; FREITAS et al., 2014). De fato, existe uma forte correlação entre as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como um marcador de peroxidação lipídica e produtos que protegem as células contra danos oxidativos (BADARINATH et al., 2010). Tal proteção pode explicar, ao menos em parte, alguns usos populares e inclusive pesquisas das propriedades farmacológicas desses

frutos, com alegação de efeitos protetores contra o comprometimento cognitivo (LEÃO et al., 2016; CATTANI, BARUQUE-RAMOS, 2016), antiagregantes plaquetários e antitrombóticos (FUENTES et al., 2013), hipocolesterolêmico (AQUINO et al., 2015, 2016) e excelente atividade de cicatrização (CÂNDIDO, SANTOS, AGOSTINI-COSTA., 2015).

6 CONCLUSÃO

Foi encontrado excelentes valores de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides e taninos, em maior quantidade na casca do fruto, bem como foi identificado CBs de grande relevância clínica em polpa, casca e endocarpo em pó do fruto de buriti (ácido protocatecuico, catequinas e epicatequinas). Além disso, se observou nessas amostras capacidade antioxidante elevada em modelos celulares *in vitro* e *ex vivo* e apresentamos, pela primeira vez, melhores potencialidades quimiopreventivas de seus subprodutos, uma vez que as cascas apresentaram valores mais elevados de compostos bioativos e substâncias fenólicas antes e após a investigação de bioacessibilidade *in vitro*. Como no Norte e Nordeste Brasileiro, a transformação do fruto de *M. flexuosa*, é feita especialmente para a produção de doces e extração de óleo, há uma grande produção anual de subprodutos (ou resíduos agrícolas) como casca, endocarpo e sementes, e nessa Tese ficou evidente que estas partes do fruto apesar de descartadas ou subutilizadas, devem ser melhor utilizadas em virtude das características nutricionais desses subprodutos com potencial para uso como ingrediente alimentar e em diversas áreas da biotecnologia sustentável.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, E. J. F., OLIVEIRA, G. A. L., SOUSA, L. Q., BOLZANI, V. D., CAVALHEIRO, A. J., TOME, A. R., PERON, A. P., SANTOS, A. G., CITÓ, A. M. G. L., PESSOA, C., FREITAS, R. M., FERREIRA, P. M. P. Counteracting effects on free radicals and histological alterations induced by a fraction with casearins. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 1791-1807, 2015.

ARAÚJO, E. J. F., LIMA, L. K. F., SILVA, O. A., REZENDE JUNIOR, L. M., GUTIERREZ, S. J. C., CARVALHO, F. A. A., LIMA, F. C. A., PESSOA, C., FREITAS, R. M., FERREIRA, P. M. P. *In vitro* antioxidant, antitumor and leishmanicidal activity of riparin A, an analog of the Amazon alkamides from *Aniba riparia* (Lauraceae). **Acta Amazonica**, v. 46, p. 309-314, 2016.

AQUINO, J. S., PESSOA, D. C. N. D., ARAÚJO, K. L. G. V., EPAMINONDAS, P. S., SCHULER, A. R., SOUZA, A. G., STAMFORD, T. L. M. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) originated from the Brazilian Cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 212–219, 2012.

AQUINO, J. S., SOARES, J., MAGNANI, M., STAMFORD, T., MASCARENHAS, R., TAVARES, R., STAMFORD, T. Effects of dietary Brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015.

AQUINO, J. S., VASCONCELOS, M. H. A., PESSOA, D. C. N. P., SOARES, J. K. B., PRADO, J. P. S., MASCARENHAS, R. J., MAGNANI, M., STAMFORD, T. L. M. Intake of cookies made with buriti oil (*Mauritia flexuosa*) improves vitamin A status and lipid profiles in young rats. **Food & Function: Royal Society of Chemistry**, p.1-9, 2016.

BARBOSA, R. L., LIMA, A.D., JUNIOR, M. M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.f. Areaceae): estimativas de produtividade de polpa e óleo vegetal em uma área de savana em Roraima. Amazônia: **INPA, CPEC**; p.24, 2009.

BASU, S., HAZRA, B. Evaluation of nitric oxide scavenging activity, in vitro and ex vivo, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 896-900, 2006.

BATISTA, J. S., OLINDA, R. G., MEDEIROS, V. B., RODRIGUES, C. M. F., OLIVEIRA, A. F., PAIVA, E. S., FREITAS, C. I. A., MEDEIROS A. D. C. (2012). Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v. 42, p. 136-141, 2012.

BATAGLION, G. A., SILVA, F. M. A., EBERLIN, M. N., KOOLEN, H. H. F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396-400, 2014.

BADARINATH, A. V., RAO, K. M., CHETTY, C. M. S., RAMKANTH, S., RAJAN, T. V. S. & GNANAPRAKASH, K. A review on *in-vitro* antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, p. 1276-1285, 2010.

BENZ, C. C., YAU, C. Ageing, oxidative stress and cancer: paradigms in parallax. **Nature Reviews Cancer**, v. 8, p. 875-879, 2008.

BECKER, F. S., DAMIANI, C., MACHADO DE MELO, A. A., BORGES, P. R. S., VILAS BOAS, E. V. B. Incorporation of buriti endocarp flour in gluten-free whole cookies as potential source of dietary fiber. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, p. 344-350, 2014.

BOSSU, C. M., FERREIRA, E. C., CHAVES, F. S., MENEZES, E. A., NOGUEIRA, A. R. A. Flow injection system for hydrolysable tannin determination. **Microchemical Journal**, v. 84, p. 88-92, 2006.

BOUAYED, J., HOFFMANN, L., BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, v. 128, p. 14-21, 2011.

BRAND-WILIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BROADHURST, R. B., JONES, W. T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **Journal of Agricultural**, v. 29, p. 788-794, 1978.

BRIONES-LABARCA, V., VENEGAS-CUBILLOS, G., ORTIZ-PORTILLA, S., CHACANA-OJEDA, M., MAUREIRA, H. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility,

as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, v. 128, p. 520–529, 2011.

CÂNDIDO, T. L. N., SILVA, M. R. & AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313-319, 2015.

CAROCHO, M., FERREIRA I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2012.

CARNEIRO, B. T., CARNEIRO, J. G. M. Fruit and pulp buriti (*Mauritia flexuosa* L.): physical, chemical and technological aspects. **Revista Verde**, v. 6, p. 105-111, 2011.

CARVALHO, C. C., MACHADO, K. N., FERREIRA, P. M. P., PESSOA, C., FONSECA, T. H. S., GOMES, M. A., NASCIMENTO, A. M. Biological screening of extracts of Brazilian *Asteraceae* plants. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, p. 2000-2005, 2013.

CATTANI, I. M., BARUQUE-RAMOS, J. Brazilian Buriti Palm Fiber (*Mauritia flexuosa* Mart.). In: Figueiro, R. e Rana, S. (Eds.). **Natural Fibres: Advances in Science and Technology Towards Industrial Applications: From Science to Market**. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 89-98, 2016.

CERIELLO, A., TESTA, R., GENOVESE, S. Clinical implications of oxidative stress and potential role of natural antioxidants in diabetic vascular complications. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, p. 285-292, 2016.

COSTA, A. B., DE OLIVEIRA, A. M. C., SILVA, A.M. O., MANCINI-FILHO, J., DE LIMA, A. Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do Noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 345-354, 2013.

CHAVES, T. L., RICARDO, L., DE PAULA-SOUZA, J., BRANDÃO, M. D. G. L. Useful Brazilian plants under the view of the writer-naturalist João Guimarães Rosa. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 25, p. 437-444, 2015.

CHAUDHURI, S., BANERJEE, A., BASU, K., SENGUPTA, B., SENGUPTA, P. K. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: antioxidant and antihemolytic effects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, p. 42-48, 2007.

ESTERBAUER, H., CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

FARIAS, D. F., SOUZA, T. M., VIANA, M. P., SOARES, B. M., CUNHA, A. P., VASCONCELOS, I. M., RICARDO, N. M. P. S., FERREIRA, P. M. P., MELO, V. M. M., CARVALHO, A. F. U. Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from Brazilian semiarid region. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

FERREIRA, B. S., ALMEIDA, C. G., FAZA, L. P., ALMEIDA, A., DINIZ, C. G., SILVA, V. L., GRAZUL, R. M., HYARIC, M. Comparative properties of Amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v. 16, p. 5875-85, 2011.

FREITAS, R. M., SILVA, O. G., FREITAS, R. M., BARREIROS, A., DAVID, J., ALVES, C., PINTO, C., DAVID, J. *In vitro* effects of arylhydrocoumarin on free radicals and oxidative stress in erythrocytes and *Saccharomyces cerevisiae*. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.15, p.1069-1082, 2014.

FUENTES, E., RODR; X. E. D., GUEZ-P, X. E., REZ, W., GUZM-XE, N. L., ALARC, X. F., NAVARRETE, S., FORERO-DORIA, O., PALOMO, I. *Mauritia flexuosa* presents in vitro and in vivo antiplatelet and antithrombotic activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

GAWLIK-DZIKI, U., JEŻYNA, M., ŚWIECA, M., DZIKI, D., BARANIAK, B. & CZYŻ, J. Effect of bioaccessibility of phenolic compounds on *in vitro* anticancer activity of broccoli sprouts. **Food Research International**, v. 49, p. 469-476, 2012.

GUENDOUZE-BOUCHEFA, N., MADANI, K., CHIBANE, M., BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L., HAUCHARD, D., KIENDREBEOGO, M., STÉVIGNY, C., OKUSA, P. N., DUEZ, P. Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of three *Ericaceae* from Algeria. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 459-466, 2015.

GREEN, L. C., TANNENBAUM, S. R., GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.

GUIMARÃES, A. G., OLIVEIRA, G. F., MELO, M. S., CAVALCANTI, S. C., ANTONIOLLI, A. R., BONJARDIM, L. R., SILVA, F. A., SANTOS, J. P. A., ROCHA, R. F., MOREIRA, J. C. F., ARAÚJO, A. A., GELAINN, D. P., QUINTANS JÚNIOR, L. J. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 107, p. 949-957, 2010.

KRISHNAIAH, D., SARBATLY, R., NITHYANANDAM R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, p. 217-233, 2011.

KOOLEN, H. H. F., DA SILVA, F. M. A., GOZZO, F. C., DE SOUZA, A. Q. L. & DE SOUZA, A. D. L.. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, p. 467-473, 2013a.

KOOLEN, H. H., SOARES, E. R., DA SILVA, F. M., DE OLIVEIRA, A. A., DE SOUZA, A. Q., DE MEDEIROS, L. S., RODRIGUES-FILHO, E., CAVALCANTE, B. C., PESSOA, C. O., MORAES, O. M., SALVADOR, M. J., DE SOUSA, A. D. Mauritic acid: a new dammarane triterpene from the roots of *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae). **Natural Product Research**, v. 27, p. 2118–2125, 2013b.

LEÃO, L. K. R., HERCULANO, A. M., MAXIMINO, C., COSTA, A. B., GOUVEIA, A., BATISTA, E. O., ROCHA, F. F., CRESPO-LOPEZ, M. E., BORGES, R., OLIVEIRA, K. *Mauritia flexuosa* L. protects against deficits in memory acquisition and oxidative stress in rat hippocampus induced by methylmercury exposure. **Nutritional Neuroscience**, p. 1-8, 2016.

LIMA, A. C. S., SOARES, D. J., SILVA, L. M. R., FIGUEIREDO, R.W., SOUSA, P. H. M., MENEZES, E. A. *In vitro* bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fibre (*Anacardium occidentale* L.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 161, p. 142-147, 2014.

LOPES, G. K. B., SCHULMAN, H. M., LIMA, M. H. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1472, p. 142-152, 1999.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

LÓPEZ-ALARCÓN, C., DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1-10, 2013.

MARXEN, K., VANSELOW, K. H., LIPPEMEIER, S., HINTZE, R., RUSER, A., HANSEN, U-P. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some Microalgal Species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. **Sensors**, v. 7, p. 2080-2095, 2007.

MANHÃES, L.R., SABAA-SRUR, A. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 856-63, 2011.

MORAIS, G. P., ALENCAR, M. V. O. B., ISLAM, T., ARAUJO, L. S., SOBRAL, A. L. P., MACHADO, K. C., AGUIAR, R. P. S., GOMES JUNIOR, A. L., CORREA, D., PAZ, M. F. C. J., FERREIRA, P. M. P., CAVALCANTE, A. A. C. M., FERRAZ, A., GRIVICICH, I., PICADA, J. N. Cytogenotoxic and oxidative status evaluation of *Morinda citrifolia*. **International Archives of Medicine**, p. 1-13, 2016.

MORI, K., GOTO-YAMAMOTO, N., KITAYAMA, M., HASHIZUME, K. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1935–1945, 2007.

MOURA, N. C., CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 270–276, 2006.

MURKOVIC, M. Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. In: Caballero, B., Finglas, P., and Toldrá, F. (eds.), **The Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, p. 346-351, 2016.

OLIVEIRA, G. L. D. S., GOMES JÚNIOR, A. L., FREITAS, R. M., OLIVEIRA, F. R. D. A. M. Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico da *Copernicia prunifera* (Mill.) HE Moore. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 293-300, 2015.

PARADA, J., AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 1750-3841, 2007.

PALAFIX-CARLOS, H., AYALA-ZAVALA, J. F., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 1750-3841, 2011.

PEREIRA-FREIRE, J. A., BARROS, K. B. N. T., LIMA, L. K. F., MARTINS, J. M., ARAÚJO, Y. D. C., DA SILVA OLIVEIRA, G. L., DE SOUZA AQUINO, J., FERREIRA, P. M. P. Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*. **Journal of Food Science**, v. 81, p. 2611-2622, 2016.

ROSELLI, M., BRITTI, M. S., HUEÁNROU-LURON, I. L., MARFAING, H., ZHU, W. Y., MENGHERI, E. Effect of different plants extracts and natural substances (PENS) against membrane damage induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 in pig intestinal cells. **Toxicology in vitro**, v. 21, p. 224–229, 2007.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, J. A., CRUZ Y VICTORIA, M. T., BARRAGÁN-HUERTA, B. E. Betaxanthins and antioxidant capacity in *Stenocereus pruinosus*: Stability and use in food. **Food Research International**, v. 91, p. 63-71, 2017.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p.1231–1237, 1999.

REIS, S. C., VIANA, E. S., DE JESUS, J. L., LIMA, L. F., NEVES, T. T., CONCEIÇÃO, E. A. Bioactive compounds and antioxidant activity of improved varieties of papaya. **Ciência Rural**, v. 45, p. 2076-2081, 2015.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., JIMÉNEZ, J. P., CALIXTO, F. S., MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SAAD, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-6, 2006.

SANTOS, M. D. F. G., MAMEDE, R. V. S., RUFINO, M. D. S. M., DE BRITO, E. S., ALVES, R. E. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, v. 4, p. 591-602, 2015.

SANTOS, A. G., FERREIRA, P. M. P., VIEIRA-JÚNIOR, G. M., PEREZ, C. C., TININIS, A. G., SILVA, G. H., BOLZANI, V. S., COSTA-LOTUFO, L. V., PESSOA, C., CAVALHEIRO, A. J. Casearin X, Its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: Evaluation of cytotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, p. 205-215, 2010.

SAINI, R. K., NILE, S. H., PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735-750, 2015.

SHAH, B.R., ZHANG, C., LI, Y., LI, B. Bioaccessibility and antioxidant activity of curcumin after encapsulated by nano and Pickering emulsion based on chitosan-tripolyphosphate nanoparticles. **Food Research International**, v. 89, p. 399-407, 2016.

SIQUEIRA, E. P., ANDRADE, A. A., SOUZA-FAGUNDES, E. M., RAMOS, J. P., KOHLHOFF, M., NUNES, Y. R., COTA, B. B. *In vitro* antibacterial action on methicillin susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, p. 1408-1417, 2014.

SRDIĆ-RAJIĆ, T., KONIĆ RISTIĆ, A. Antioxidants: Role on Health and Prevention. In: CABALLERO, B., FINGLAS, P., AND TOLDRÁ, F. (eds.), **The Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, pp. 227-233, 2016.

SHARMA, P., SHARMA, J. D. *In vitro* hemolysis of human erythrocytes – by plant extracts with antiplasmodial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 239-243, 2001.

TAGLIAZUCCHI, D., VERZELLONI, E., BERTOLINI, D., CONTE, A. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, p. 599-60, 2010.

TAUCHEN, J., BORTL, L., HUML, L., MIKSATKOVA, P., DOSKOCIL, I., MARSIK, P., VILLEGAS, P. P. P., FLORES, Y. B., DAMME, P. V., LOJKA, B., HAVLIK, J., LAPCIK, O., KOKOSKA, L. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 728-737, 2016.

TUR, J. A., BIBILONI, M. M. Functional Foods. IN: CABALLERO, B., FINGLAS, P., AND TOLDRÁ, F. (eds.), **The Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, pp.157-161, 2016.

VAN DEN BERG, R., HAENEN, G. R. M. N., VAN DEN BERG, H., BAST, A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v. 66, p. 511-517, 1999.

ZHANG, Q., CHEN, W., ZHAO, J., XI, W. Functional constituents and antioxidant activities of eight Chinese native goji genotypes. **Food Chemistry**, v. 1, p. 230-236, 2016.

CAPÍTULO 4

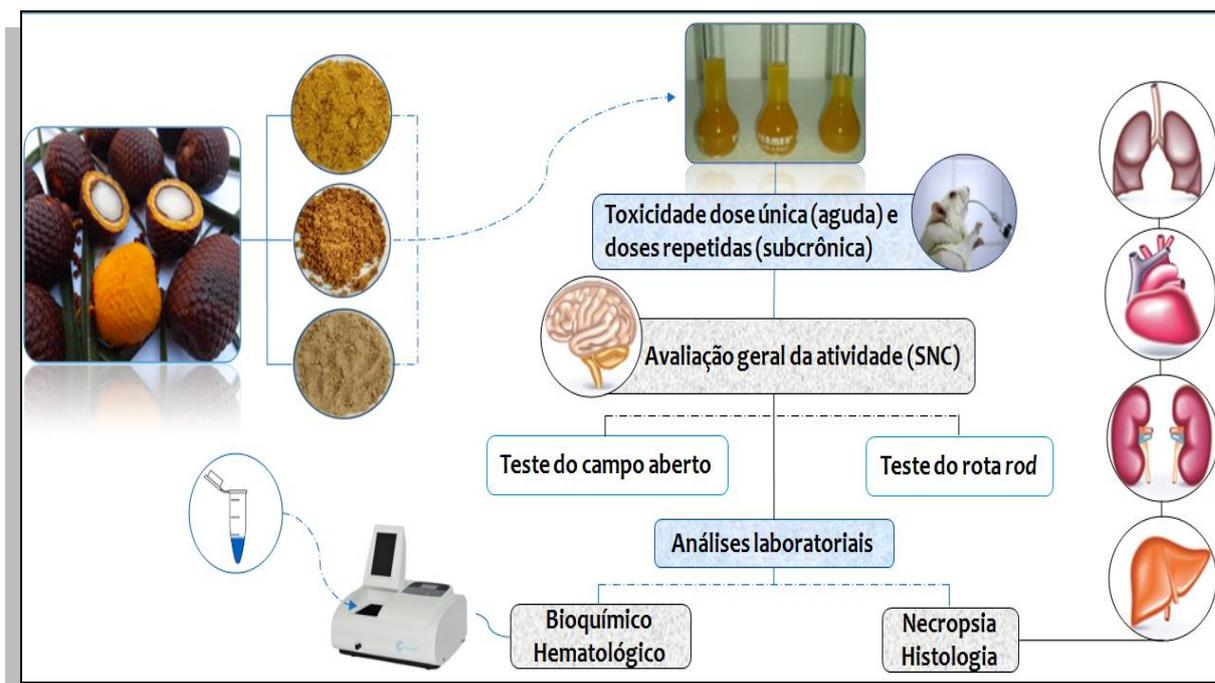
Toxicidade pré-clínica dos bioprodutos liofilizados de buriti



Preclinical toxicity of buriti lyophilized bioproducts

Artigo a ser submetido à revista A2: Journal of Ethnopharmacology

RESUMO GRÁFICO



Toxicidade pré-clínica de bioprodutos liofilizados de *Mauritia flexuosa*

RESUMO

Os bioprodutos de buriti demonstraram ser de grande relevância nutricional e potencial antioxidante, além de outros efeitos farmacológicos anteriormente comprovados, entretanto, é fundamental avaliar a toxicidade destes produtos para que possam ser utilizados como alimentos funcionais, assim como ampliar a oferta destes à população. O objetivo do estudo foi determinar os efeitos da administração aguda (dose única) e subaguda (28 dias) sobre parâmetros bioquímicos, hematológicos e histológicos, bem como a atividade locomotora e coordenação motora de camundongos tratados com extratos aquosos de polpa, casca e endocarpo de buriti. Camundongos *Swiss*, sexo feminino, pesando entre 25 - 35 g foram utilizados nos experimentos. Na toxicidade aguda, os animais receberam por via oral, dose única dos extratos aquosos de polpa, casca e endocarpo de buriti (*Mauritia flexuosa*), doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg (n = 3 por grupo), além de grupo controle negativo (água, v.o.; 1 mL/100g). Para toxicidade subaguda, foram administradas doses repetidas por 28 dias de 300 mg/Kg e 600 mg/Kg (n = 7 por grupo) além de grupo controle negativo (água, v.o. 1 mL/100g; n = 7) e grupo controle positivo (diazepam 1 mg/Kg, i.p., n = 5), para avaliação nos testes comportamentais. Os parâmetros de avaliação comportamental foram semelhantes para toxicidade aguda e subaguda. Os animais foram observados aos 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 12h e 24h e a partir de então a avaliação foi realizada até o 14º dia (toxicidade aguda) após o tratamento, seguindo o *screening* hipocrático, e até o 28º dia, para avaliação de toxicidade subaguda. A cada 2 dias, eles foram pesados e o consumo de ração e água foram quantificados. Em ambas as doses nenhuma alteração em relação ao *screening* hipocrático foi observada, além disso, não houve diferença significativa quanto ao peso dos órgãos entre os grupos tratados e o controle, nem foram observadas alterações macroscópicas e histológicas (coração, rins, pulmão, fígado, baço, estômago e cérebro). No perfil bioquímico, não houve diferença estatística no tratamento agudo, de dose única, no entanto, no tratamento com doses repetidas, foi observado redução de glicose, triglicerídeos e colesterol total para todos os grupos em tratamento. O HDL-c foi significativo em relação ao controle ($p < 0,05$) apenas no grupo tratado com extrato de casca na maior dose administrada (600 mg/Kg). Diante dos resultados, é possível sugerir que o extrato da polpa, casca e endocarpo do fruto de buriti não apresenta toxicidade aguda e subaguda sobre camundongos *Swiss*, nas concentrações testadas, e que possivelmente podem apresentar alguma ação na melhoria do metabolismo glicídico e lipídico em camundongos *Swiss*, devendo ser realizado uma pesquisa com protocolo apropriado para testar essas possíveis ações farmacológicas.

Palavras-chave: Liofilização. Frutos. Bioquímica. Intoxicação aguda. Intoxicação Subaguda.

Preclinical toxicity of lyophilized bioproducts of *Mauritia flexuosa*

Joilane Alves Pereira-Freire^{a,b}, George Laylson da Silva Oliveira^b, Carla Lorena Silva Ramos^c, Jurandy do Nascimento Silva^b, Guilherme Antônio Lopes de Oliveira^b, Rosália Maria Tôrres de Lima^b, Marcus Vinícius Oliveira Barros de Alencar^b, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante^c, João Marcelo de Castro e Sousa^d, Adriana Maria Viana Nunes^e, Paulo Michel Pinheiro Ferreira^{b,e*}

^a *Department of Nutrition, Federal University of Piauí, 64607-670, Picos, Piauí, Brazil*

^b *Postgraduate Program in Biotechnology (RENORBIO), Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil*

^c *Department of Pharmacy, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil*

^d *Department of Biology, Federal University of Piauí, 64607-670, Picos, Piauí, Brazil*

^e *Department of Biophysics and Physiology, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil*

*Corresponding author at: Laboratory of Experimental Cancerology, Department of Biophysics and Physiology, Federal University of Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brazil. E-mail address: pmpf@ufpi.edu.br (P. M. P. Ferreira).

ABSTRACT

Buriti by-product demonstrated to be of high nutritional relevance and potential antioxidant, besides other pharmacologic effects previously proven. However, it is fundamental to evaluate the toxicity of such products so they could be consumed as functional foods, as well as to increase their availability to the population. The objective of the study was to determine the effects of acute (single-dose) and sub-acute (28 days) administration over biochemical, hematologic and histologic parameters, as well as the locomotor activity and body coordination of mice treated with aqueous extracts from the buriti pulp, peel and endocarp. The experimental sample were female Swiss mice with 25 to 35g of body mass. In the acute toxicity, we submitted the animals to oral single-doses of aqueous extracts of the buriti's (*Mauritia flexuosa*) pulp, peel, and endocarp with doses at 300 and 2000 mg/Kg (n = 3 per group), besides we used a negative control group (water, v.o.; 1 mL/100g). With concern to the sub-acute toxicity, we administrated repeated doses of the same extracts with doses at 300 and 600 mg/Kg (n = 7 per group), a negative control group (water, v.o. 1mL/100g; n = 7), and positive control group (diazepam 1 mg/Kg, i.p., n = 5) to the behavioral tests evaluation. The behavioral evaluation parameters were similar in both acute and sub-acute toxicity. We observed the animals after 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 12h, 24h after the first dose administration. After that, the evaluation was realized by following the hippocratic screening just after the administration until the 14th day (acute toxicity) and up to the 28th day (sub acute toxicity). Every 2 days, we measured their body mass and their feed and water intake. The hippocratic screening showed no changes, besides, there was no significant changes with regarding to the organs weight of the treated groups, including the control one. In addition, we observed no macroscopic nor histological changes (liver, heart, kidneys, lung, spleen, stomach, and brains). In the biochemical profile, there was no statistical difference in the acute treatment (single-dose). However, we observed glucose, triglyceride, and total cholesterol reduction in all groups in the treatment with repeated doses. The cholesterol HDL was significant in relation to the control ($p < 0.05$) only in the group treated with the administration of bigger doses of the extract of pulp (600 mg/Kg). From the results, it is possible to suggest the pulp, the peel, and the endocarp of the buriti fruit show neither acute or sub acute toxicity over Swiss mice, with regarding to the concentrations tested in this experiment. Besides, it is possible they have contributed in improvement of the glicidic and lipidic metabolism of Swiss mice, which point out to further investigation regarding such possible pharmacological effects under a proper protocol.

Keywords: Lyophilization. Fruits. Biochemistry. Acute and sub-acute toxicity

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o mercado brasileiro de produtos naturais está em franca expansão, acompanhando uma tendência mundial e isso se deve ao argumento de que as plantas e compostos naturais são eficazes, seguros e isentos de efeitos adversos, além de apresentarem atividade terapêutica específica (RECKZIEGEL et al., 2011). Entretanto, em sua maioria, essas indicações terapêuticas possuem fundamentação apenas em hábitos e costumes populares, sem comprovação farmacológica ou mesmo estudos de toxicidade pré-clínicos. Tais produtos naturais possuem uma ampla variabilidade de constituintes químicos e isso reflete em diferentes mecanismos biológicos, farmacológicos e toxicológicos, assim como interfere também sobre sua eficácia e segurança. Portanto, a avaliação de substâncias isoladas, frações ou extratos necessitam de estudos para elucidar a atividade biológica, concentração ativa, o potencial tóxico e investigar os mecanismos atribuídos para cada constituinte existente em diferentes partes da planta (AHMADI et al., 2011; KOOLEN et al., 2015).

No Brasil, o reconhecimento das propriedades nutricionais e quimiopreventivas de produtos naturais tem elevado o consumo de frutas tropicais no mercado nacional e internacional, especialmente, em virtude de pesquisas que indicam a enorme relevância desses alimentos para a saúde humana (FAO, 2015). Porém, a indústria alimentícia está mais atenta aos desejos do consumidor e ao retorno do investimento, produzindo novos produtos com a inserção de ingredientes funcionais e concentrando o *marketing* no apelo à vida saudável sem de fato se preocupar com os reais benefícios (e malefícios) de tais produtos. Entretanto, devido à existência de normas mais rígidas e claras para a formulação, determinação da eficácia, segurança e venda, os produtos de origem vegetal com propriedades farmacoterapêuticas tem se destacado contra diversas patologias, inclusive contra aquelas que não respondem bem aos tratamentos convencionais (MARQUES et al., 2014; AQUINO et al., 2015; PEREIRA et al., 2015).

A *Mauritia flexuosa* (buriti) é um fruto do cerrado brasileiro rico em compostos bioativos de importância nutricional e terapêutica. Dentre eles, estão os compostos fenólicos e carotenoides, evidenciados como protetores contra agentes indutores de danos ao DNA (KOOLEN et al., 2015; CHANG; SHEEN; LEY, 2015). Esses compostos (alcaloides e flavonoides) que produzem efeitos benéficos à saúde devido à ação quimiopreventiva, podem também apresentar efeitos tóxicos ou citotóxicos (HALLIWELL, 2008). Logo, é necessário o desenvolvimento de pesquisas de caracterização fitoquímica de frutos tropicais como o buriti, assim como analisar sua toxicidade e genotoxicidade, a fim de propor

alimentos e produtos nutracêuticos toxicologicamente seguros (KEY et al., 2015; KOOLEN et al., 2015). Uma vez que a polpa do buriti e demais partes de seu fruto apresentam grande potencial para serem aplicados como ingredientes funcionais na área de tecnologia de alimentos e em biotecnologia sustentável, nesta parte do trabalho analisou-se a toxicidade aguda e subaguda da polpa, casca e endocarpo em animais e parâmetros bioquímicos, hematológicos, comportamentais e histológicos em camundongos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do extrato aquoso de partes da *M. flexuosa*

Trezentas unidades de frutos de buriti (*Mauritia flexuosa*) foram coletados na cidade de Água Branca, estado do Piauí (latitude 5° 54'S; longitude 42°38'W), no mês de dezembro de 2014, e levados ao Laboratório do Instituto Federal do Piauí (IFPI) para iniciar o processo de despulpa e separação das partes do fruto. A exsicata de Nº 30567 foi depositada no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), referente à *M. flexuosa* L. Os frutos foram selecionados quanto à sanidade e mesmo estágio de maturação, para posteriormente serem higienizados em água contendo 25 ppm de hipoclorito de sódio comercial. Em seguida, foi realizado o processo de despulpa e separação das partes do fruto, obtendo-se a polpa, casca e o endocarpo.

As amostras do fruto foram liofilizadas e analisadas somente após esse processo. Para tanto as diferentes partes do buriti foram congeladas separadamente em ultrafreezer, na temperatura de -70 °C para em seguida, serem depositadas em bandeja de aço inoxidável do liofilizador modelo L101 (Liotop, São Carlos, Brasil), que foi hermeticamente fechado e acionado o sistema de congelamento. Todas as amostras foram liofilizadas em temperatura de - 40°C e pressão à vácuo abaixo de 500 mmHg e velocidade de liofilização de 1 m/h (unidade de vazão), por 72 horas, em seguidas foram acondicionadas em embalagens plásticas e sob refrigeração, além de serem processadas em moinho de rotor tipo ciclone (TE-651/2-TECNAL) até a obtenção de um pó homogêneo (0,5 mesh).

2.2 Preparo do extrato aquoso

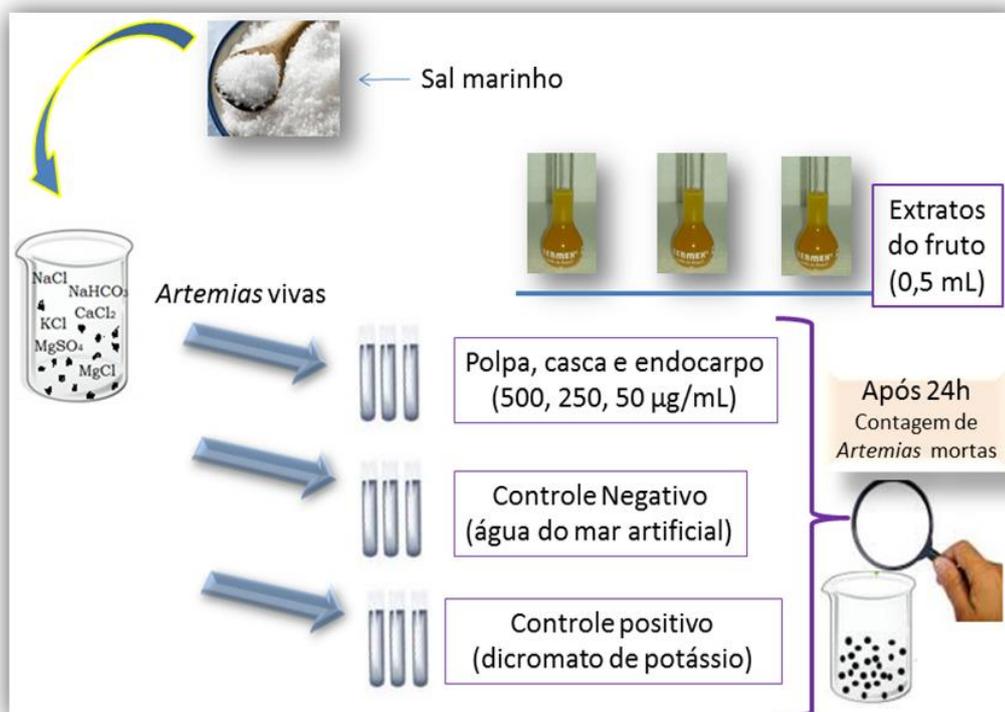
As três amostras analisadas, após processo de desidratação por liofilização e processamento em moinho rotor, foram submetidas à extração com solução aquosa por maceração em gral de pistilo durante 10 minutos (1/10, amostra/solvente) para obtenção de solução com consistência uniforme e homogênea. Em seguida, foi realizado o armazenamento dos extratos aquosos a 4°C até o momento da administração por gavagem

em camundongos. Esse procedimento foi realizado para o estudo de toxicidade aguda (com *Artemia salina* e em camundongos) e na toxicidade subaguda.

2.3 Teste de toxicidade em *Artemia salina* dos bioprodutos de buriti

O ensaio de toxicidade com *A. salina* foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Meyer et al. (1982). Para tanto, foi preparado água do mar artificial com NaCl (15,153 g), MgCl (1,398 g), MgSO₄ (1,888 g), CaCl₂ (0,652 g), KCl (0,414 g), NaHCO₃ (0,116 g), dissolvidos em 1 L de água destilada. Em seguida, os ovos de *A. salina* foram colocados na solução preparada (10 mg/mL), com aeração constante a 25 °C. Após 48h, foram colocados, em triplicata, dez exemplares de náuplios em tubos de ensaio em um volume total de 10 mL de água marinha artificial com concentrações finais de 50, 250, 500 e 1000 µg/mL da casca, polpa e endocarpo do buriti (*M. flexuosa*), dissolvidos em água destilada e Tween 80 para solubilizar. O grupo controle negativo foi representado apenas por água marinha e Tween 80 a 1% (v/v) e o controle positivo recebeu dicromato de potássio (50 µg/mL). Após o período de 24 h, foi realizada a contagem do número de náuplios sobreviventes usando uma lupa (**Figura 1**).

Figura 1 - Representação esquemática do teste de *Artemia Salina*.



Fonte: Autoria própria.

2.4 Estudos de toxicidade

2.4.1 Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) fêmeas da linhagem Swiss, nulíparas, não grávidas, saudáveis, com 3 meses de idade e média de $30,0 \pm 0,10$ g, todos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí. Os animais receberam água e ração tipo em *pellets* (Purina®, Brasil) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (12h de ciclo claro/escuro) e temperatura (24 ± 2 °C). Os experimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA - Protocolo 054/2014) da Universidade Federal do Piauí (UFPI, Teresina).

Figura 2 - *Mus musculus*, linhagem Swiss.



Fonte: Arquivo pessoal.

2.4.2 Avaliação da toxicidade aguda e subaguda

O delineamento experimental para realização dos testes de toxicidade aguda e subaguda dos extratos da polpa e demais subprodutos do buriti está descrito no esquema gráfico da **Figura 3**. O extrato aquoso das amostras foi administrado por gavagem orogástrica, tanto para avaliação da toxicidade aguda quanto da subaguda. O volume não excedeu a 1 mL/100g de peso. Para todos os testes, foi incluído um grupo controle, tratado apenas com veículo (água).

O comportamento geral dos camundongos foi monitorizado continuamente durante 1h após a administração, e periodicamente, durante as primeiras 24h, com especial atenção durante as primeiras 3h (LITCHFIELD; WILCOXON, 1949). Nesse teste, os animais foram

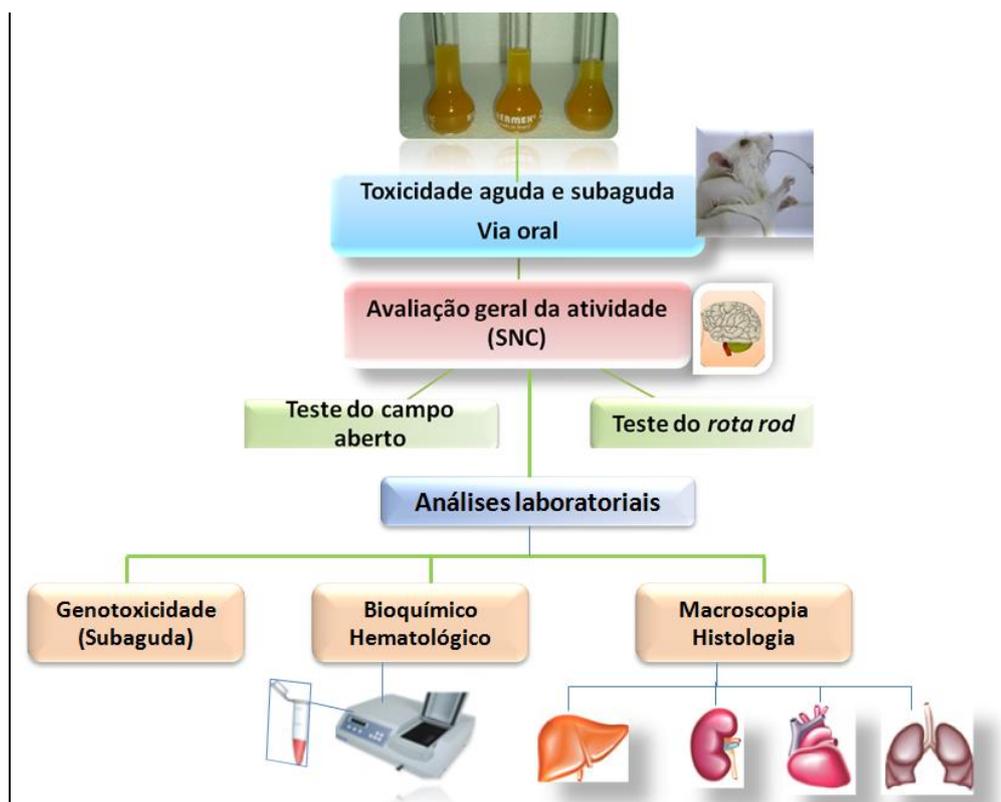
diariamente avaliados até 14 dias (toxicidade aguda) e até 28 dias (toxicidade subaguda). As alterações nas atividades normais dos camundongos foram monitoradas, assim como o tempo em que os sinais de toxicidade ou de morte apareceram.

Levando em consideração a minimização da dor e do sofrimento, bem como a garantia da robustez e reprodutibilidade dos estudos, realizou-se a metodologia de toxicidade aguda Classe Tóxica, estabelecida pela *Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), número 423 (OECD, 2001)*. A dose inicial de 300 mg/kg foi selecionada considerando substâncias não testadas ou com histórico de toxicidade desconhecida. Como não foi observada morte nesta dose, testou-se a dose mais alta recomendada (2000 mg/kg). Para tanto, foram utilizados 3 animais por grupo (ANVISA, 2013). Antes das administrações, os animais foram aclimatados durante 5 dias no Biotério setorial de Experimentação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) e mantidos em jejum por 4- 6h com acesso à água *ad libitum* antes da administração. Os animais foram alimentados após 2h e observados para detecção de morte e outros sinais e sintomas de toxicidade aos 30 min, 1h, 2h e 4h. Foram avaliados os efeitos sobre: a) Estado de consciência e disposição (frênito vocal e irritabilidade); b) Coordenação motora (atividade geral, resposta ao toque, resposta ao aperto de cauda, contorção abdominal, reflexo de endireitamento); c) Tônus muscular (tônus do corpo, força para agarrar, ataxia); d) Reflexos (corneal); e) Atividade do sistema nervoso central (tremores, convulsões, estimulações, fenômeno de “Straub”, hipnose, anestesia); f) Atividade do sistema nervoso autônomo (lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, respiração) (MALONE; ROBICHAUD, 1962, 1983; LUCIO et al., 2000).

O teste de toxicidade oral subaguda foi realizado segundo o protocolo experimental OECD 407 (2008) (**Figura 3**). Para tal, foram utilizados 7 animais por grupo, e as doses foram de 300 mg/kg (semelhante à dose de toxicidade aguda) e 600 mg/kg de cada amostra (polpa, casca e endocarpo), uma dose inferior e uma intermediária à maior dose proposta pela OECD, além do grupo veículo (água, v.o. 1mL/100g). A administração foi realizada por via oral durante 28 dias consecutivos, sempre no mesmo horário, respeitando o ciclo claro/escuro. Uma vez que objetivou-se também analisar possíveis alterações comportamentais, um grupo extra de animais foi acrescentado como controle positivo e recebeu via intraperitoneal diazepam 1mg/Kg (n = 5) somente no dia das análises (29º dia) e em seguida foram submetidos aos estudos comportamentais conforme protocolo dos demais grupos.

O modo de administração dos extratos, assim como a observação dos sinais de toxicidade, seguiu mesma metodologia aplicada na avaliação da toxicidade de dose única. Para acompanhamento da evolução do teste de toxicidade, os animais foram marcados, a partir da base da cauda, com número de traços feitos com caneta marcadora permanente.

Figura 3 - Esquema do estudo da toxicidade aguda e subaguda de polpa, casca e endocarpo de buriti.



Fonte: Autoria própria.

Após a avaliação dos parâmetros relacionados à toxicidade aguda e subaguda e após o período de observação para ambos, os animais foram submetidos à eutanásia com solução de cetamina (90 mg/kg) e xilazina (5 mg/kg), via intraperitoneal, para realização de estudos neuroquímicos, clínicos (bioquímicos e hematológicos) e histológicos (**Figura 3**).

2.4.3 Análises comportamentais

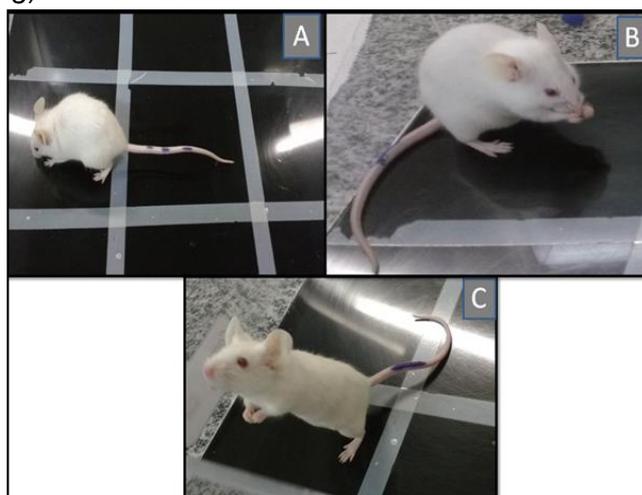
Após 60 min da administração única das amostras de buriti, os animais foram avaliados quanto aos sinais de toxicidade como descrito anteriormente e submetidos a testes comportamentais (T₀: 1º dia e único dia de administração das substâncias; T₇: 7 dias após administração e no T₁₄: 14º dia após a administração e antes da eutanásia dos

animais). Já os animais do estudo de subaguda (28 dias) foram avaliados em 5 tempos distintos: T₀, T₇ e T₁₄, T₂₁ e T₂₈.

- Teste de campo aberto

Para avaliar a atividade locomotora dos animais, estes foram colocados um por um, em campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 × 30 × 15 cm), dividido em nove quadrados de áreas iguais (ARCHER, 1973). Após 30 min dos tratamentos, os seguintes parâmetros foram observados: número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos (*rearing*), sem encostar na parede do campo aberto. A avaliação foi realizada durante o tempo de 5 min (**Figura 4**) e após cada sessão de teste individual, o campo foi lavado com água e sabão, limpo com álcool 70% para remover qualquer vestígio deixado pelos animais.

Figura 4 – Atividade locomotora dos camundongos pelo teste de campo aberto, onde (A) - número de cruzamentos; (B) Comportamento de autolimpeza (*grooming*) e (C) Número de levantamentos (*rearing*).



Fonte: Arquivo pessoal.

- Coordenação motora: teste rota rod

O teste da barra giratória (**Figura 5**) foi escolhido para determinar os efeitos da administração dos extratos de buriti sobre a coordenação motora e relaxamento muscular dos animais. Os camundongos foram treinados antes do experimento para desenvolver a capacidade de permanecer durante 180 segundos em uma barra de 25 mm de diâmetro a uma velocidade de rotação de 17 rpm. Três ensaios foram suficientes para o animal

aprender a tarefa. Cada animal foi avaliado quanto ao número de quedas (até três quedas) e o tempo de permanência na barra durante 180 s foram registrados (DUNHAM; MIYA, 1957).

Trinta minutos após a administração, os animais foram colocados com as quatro patas sobre uma barra giratória de 2,5 cm de diâmetro, elevada a 25 cm do piso, em uma rotação de 17 rpm, por um período de três minutos, para cada animal. Foram registrados, o tempo de permanência na barra giratória, em segundos (s), e o número de quedas, com três reconduções, no máximo. Após cada sessão de teste individual, o equipamento foi lavado com água e sabão, limpo com álcool 70% para remover qualquer vestígio deixado pelos animais.

Figura 5 - Barra giratória (*rota rod*) usada para avaliar a coordenação motora.



Fonte: Autoria própria

2.4.4 Análise dos dados fisiológicos

- Avaliação de ganho de peso

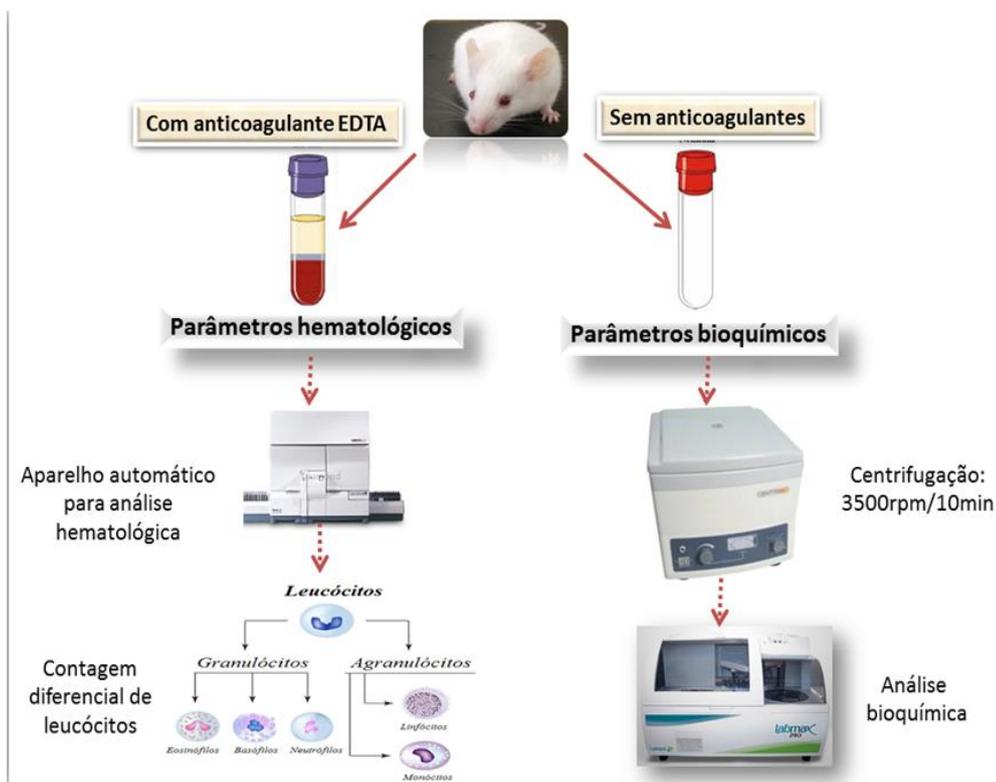
Os animais foram pesados em balança semi-analítica, a cada 2 dias, durante os 14 dias de tratamento agudo, para a avaliação do ganho de peso. Para a determinação do ganho ponderal durante 28 dias de exposição, os animais foram pesados nos seguintes tempos: T_0 , $T_{7\text{dias}}$, $T_{14\text{dias}}$, $T_{21\text{dias}}$ e no $T_{28\text{dias}}$. Para a avaliação do consumo de ração, esta era pesada no momento de ser disponibilizada aos animais e posteriormente no dia de limpeza das gaiolas.

- Parâmetros bioquímicos e hematológicos

Depois de 14 dias do tratamento agudo (dose única) e 28 dias de doses repetidas, os animais foram submetidos a um jejum de 4 - 6 h em período diurno e após anestesia foi realizado a coleta de sangue por punção cardíaca. Para tal, os animais foram anestesiados e o sangue foi acondicionado em dois tipos de tubo, um com anticoagulante EDTA (Laborlab®) para determinação dos parâmetros hematológicos e o outro, sem anticoagulante, para obtenção do soro e avaliação dos parâmetros bioquímicos (**Figura 6**).

Para análise bioquímica, o material centrifugado a 3500 rpm durante 10 min foi analisado quanto à glicose, ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, triglicerídeos e a lipoproteína de alta densidade (*High Density Lipoprotein, HDL*). Os ensaios foram realizados em aparelho automático *Labmax 240* com sistemas comerciais da LABTEST®. Os parâmetros hematológicos incluíram eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos de volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) determinados imediatamente após a coleta em analisador automático de células hematológicas *Advia 120/hematology* (Siemens) e contagem diferencial de leucócitos realizada em extensões coradas com *May-Grünwald-Giemsa*.

Figura 6 - Processamento do sangue para análise hematológica e bioquímica



Fonte: Autoria própria.

- Análises histológicas

Após a eutanásia dos animais, os órgãos chave do metabolismo (fígado, rins, coração, baço, cérebro, pulmão e estômago) foram coletados, pesados para o cálculo do peso relativo e colocados em solução de formaldeído tamponado 10%. Posteriormente, amostras de cada órgão com cerca de 1cm de espessura foram processadas no Laboratório de Cancerologia Experimental por desidratação em séries crescentes de etanol (70 - 100%), diafanização com xilol e inclusão em parafina histológica. Os blocos de inclusão foram seccionados em micrótomo convencional, em uma espessura de 4-6 μm e os cortes obtidos foram submetidos ao processo de coloração por Hematoxilina e Eosina (HE). Para avaliação dos rins foi realizado corte longitudinal no órgão evidenciando medula e córtex renal. Em relação ao fígado e demais órgãos, o corte foi realizado em várias áreas aleatoriamente. O coração foi cortado transversalmente para visualização dos dois ventrículos e septo intraventricular. Subseqüentemente, as lâminas foram examinadas em microscópio óptico (400x).

2.4.5 Determinação de enzimas antioxidantes no hipocampo

Após a dissecação do cérebro, o hipocampo de ambos os lados foi retirado para os estudos neuroquímicos. O homogenato hipocampal foi preparado com 10% (p/v) de tampão fosfato de sódio 50 Mm, pH 7.4 para a determinação do teor de GSH (glutathiona reduzida) e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase.

- Glutathiona reduzida

A GSH foi quantificada após 28 dias de tratamento via oral com os extratos de polpa, casca e endocarpo (300 e 600 mg/kg). Os hipocampos foram homogeneizados em EDTA 0,02 M para determinação dos níveis de GSH utilizando DTNB [5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)] (FREITAS et al., 2010). A concentração de proteína totais foi determinada de acordo com CHANCE, MAEHLY, 1955.

A GSH foi mensurada por meio do processo de reciclagem enzimática, em que a glutathiona reduzida é sequencialmente oxidada pelo ácido 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzóico para glutathiona oxidada, que é então reduzida pelo NADPH na presença de glutathiona redutase. Os resultados foram expressos em U/ μg de proteína.

- Superoxido dismutase

O meio reacional contendo tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7.8, xantina 500 μM , cianeto de potássio 200 μM e EDTA 1 mM foi preparado. O sobrenadante do

homogenato foi removido para determinação da atividade da superóxido dismutase. A xantina oxidase (5 U/mL) usada na reação. Em seguida foi realizado o ensaio contendo 975 µL do meio reacional, 20 µL da amostra e 5 µL de xantina oxidase.

A mistura foi agitada e em seguida realizada a leitura após 6 min a 550 nm. A quantidade da atividade da superóxido dismutase das amostras foi calculada usando a média das absorções lineares obtidas durante 6 min pela curva. Em seguida, a concentração da proteína foi obtida (CHANCE, MAEHLI, 1955). Uma unidade (U) da atividade da SOD corresponde à inibição de 50% da reação do O₂ com o citocromo c. A atividade da SOD nas amostras foi determinada a partir de uma curva esquemática e os resultados foram expressos em U/mg de proteína.

- Catalase

A atividade da catalase foi baseada na medida da velocidade de produção de O₂ e H₂O à proporção que o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) utilizado como substrato era hidrolisado. Foi preparado o meio reacional com H₂O₂ (18 mL), Tampão Tris-HCl 1M, EDTA 5 mM pH 8,0 (1,0 mL) e H₂O Milli-Q (0,8 mL). Posteriormente, 940 µL do meio de reação acrescidos de 60 µL do homogenato de cada área a 10% preparado em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7.4, foram colocados em cubeta de quartzo seguido de leitura em espectrofotômetro a 230 nm durante 6 minutos a temperatura de 37°C. A concentração de proteína foi medida e os resultados foram expressos em mg/mg de proteína (CHANCE, MAEHLI, 1955).

2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± E.P.M (erro padrão da média) e comparados usando análise de variância de uma via (ANOVA *one-way*) seguidas pelo teste de *Student-Newman-Keuls* ($p < 0.05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *GraphPad (Intuitive Software for Science, San Diego, CA, EUA)*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes pré-clínicos de toxicidade de candidatos a ingredientes de alimentos funcionais, fármacos e nutracêuticos são realizados para caracterizar potenciais efeitos adversos e para fornecer estimativas iniciais da margem de segurança para seres humanos. O desenvolvimento de tais produtos não inclui apenas o perfil farmacocinético e farmacodinâmico, mas também fases essenciais da avaliação da segurança farmacológica e

da janela terapêutica, incluindo a toxicologia sistêmica e genética, geralmente com pesquisas realizadas em ratos e camundongos, para a validação do seus usos, bem como segurança em suas aplicações (HOUCK, KAVLOCK, 2008; FERREIRA et al., 2009; CARDOSO et al., 2015; FERREIRA et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016). Por isso, considera-se importante a avaliação toxicológica pré-clínica desenvolvida nessa tese.

3.1 Toxicidade em *Artemia salina* e screening hipocrático

Embora a toxicologia continue dependendo fortemente do uso de mamíferos de laboratório para a previsão do risco de toxicidade de compostos biologicamente ativos em seres humanos (HOUCK, KAVLOCK, 2008; ROBERTS et al., 2015; WARHEIT, BROWN, DONNER, 2015), há uma tendência mundial para o desenvolvimento de métodos alternativos ao uso de animais como preditivos de toxicidade (CAZARIN et al., 2004). Com esse intuito, avaliou-se, inicialmente, a toxicidade aguda da polpa, casca e endocarpo em náuplios de *Artemia salina*.

O microcrustáceo *Artemia salina* Leach (1819) é um invertebrado pertencente ao filo Arthropoda, classe Crustacea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca, família *Artemidae*. Possui distribuição cosmopolita e caráter extremamente eurialino. A grande dispersão do gênero pelo mundo em enormes populações pode ser atribuída à reprodução partenogênica com produção de cistos, que ocorre na ausência do macho. Espécimes do gênero *Artemia* atuam como elo trófico entre as comunidades planctônicas e as cadeias superiores, o que explica seu uso como biossensor ecotoxicológico. Por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório, sensível e de baixo custo, ele tem sido largamente utilizado pela comunidade científica, pois permite uma avaliação preliminar da toxicidade de produtos naturais e sintéticos com potencial atividade biológica, além de possibilitar a determinação de valores de CL₅₀. O teste consiste na exposição dos náuplios na fase II ou III durante 24 e/ou 48h à concentrações crescentes da amostra que se pretende testar com análise do número de organismos mortos ao final do período de exposição (EL FELLS, 2016; ZANI et al., 2016). Aqui, usamos náuplios de fase II (48h de vida) e os preliminares frente a náuplios de *Artemia salina* não revelaram toxicidade após 24h de exposição, havendo completa ausência de morte até a maior concentração testada (1000 µg/mL), não apresentando diferença estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle negativo ($p > 0,05$).

Em seguida, analisou-se a toxicidade aguda das amostras do buriti em regime de dose única em camundongos. No Brasil, a toxicidade dos produtos naturais é quase sempre colocada em segundo plano (FERREIRA et al., 2009; PEREIRA et al., 2015). O uso

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de Mauritia flexuosa (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

imprudente, muitas vezes até para finalidades diferentes daquelas tradicionalmente empregadas, a identificação errônea, a presença de adulterantes e contaminantes, as associações e sinergismos possíveis, assim como a obtenção ou preparo indevidos podem causar sérios problemas de saúde pública. Portanto, é necessário conhecer as características farmacológicas e toxicológicas, a posologia e os aspectos clínicos associados a essas substâncias, evitar a propagação de informações equivocadas e aprimorar os métodos de produção, controle de qualidade e fiscalização, para que ocorra realmente segurança na utilização de produtos naturais (VEIGA-JÚNIOR et al., 2005; SEEFF, 2007; JORDAN et al., 2010), o que certamente dará segurança aos profissionais da saúde para prescrição de substâncias provenientes da natureza.

Tabela 1 – Análise de efeitos tóxicos de bioprodutos do fruto de *Mauritia flexuosa* em camundongos *Swiss* fêmeas após administração aguda e subaguda.

Toxicidade aguda				
Amostras	Doses (mg/kg)	Mortos/Vivos	Latência para Mortalidade (min)	Sinais de Toxicidade
Polpa	Controle negativo	0/3	–	Nenhum
	300	0/3	–	Nenhum
	2000	0/3	–	Nenhum
Casca	Controle negativo	0/3	–	Nenhum
	300	0/3	–	Nenhum
	2000	0/3	–	Nenhum
Endocarpo	Controle negativo	0/3	–	Nenhum
	300	0/3	–	Nenhum
	2000	0/3	–	Nenhum
Toxicidade subaguda				
Amostras	Doses (mg/kg)	Mortos/Vivos	Latência para Mortalidade (min)	Sinais de Toxicidade
Polpa	Controle negativo	0/7	–	Nenhum
	300	0/7	–	Nenhum
	600	0/7	–	Nenhum
Casca	Controle negativo	0/7	–	Nenhum
	300	0/7	–	Nenhum
	600	0/7	–	Nenhum
Endocarpo	Controle negativo	0/7	–	Nenhum
	300	0/7	–	Nenhum
	600	0/7	–	Nenhum

Quanto aos resultados do *screening* hipocrático, não foram observados sintomas de toxicidade aguda para as doses administradas por via oral (300 e 2000 mg/kg) e nenhuma morte foi detectada após 14 dias. Os extratos aquosos da polpa e demais partes do fruto

também não causaram sinais ou sintomas de toxicidade após 28 dias de tratamento nas doses de 300 e 600 mg/kg (**Tabela 1**). A ausência de toxicidade macroscópica evidente sugere que as amostras de *M. flexuosa* possuam baixa toxicidade e pertençam à categoria Classe 5 de acordo com o método de classes tóxicas preconizado pela OECD 423 (OECD, 2001). A dose seguinte a ser testada seria a de 5000 mg/kg. No entanto, o estudo dessa dosagem somente é recomendado em casos excepcionais que justifiquem a sua necessidade (ANVISA, 2013). Afinal, alterações em doses muito elevadas poderiam ocorrer por descompensação do organismo avaliado e não necessariamente por uma ação tóxica específica.

3.2 Parâmetros neurocomportamentais

Como complementação das análises tóxicas gerais analisou-se possíveis alterações comportamentais dos animais tratados com amostras do buriti. Os testes comportamentais fornecem evidências, de modo implícito ou explícito, da forma como determinadas substâncias alteram o estado emocional de animais. O comportamento exploratório e o padrão de locomoção são fatores diretamente relacionados com o estado de ansiedade das cobaias, o que por sua vez, pode ser o resultado de modificações neuroquímicas ou de lesões no sistema nervoso central havendo, portanto a possibilidade de associar modificações comportamentais com exposições neurotóxicas aos extratos do buriti (LISTER, 1990; VIAUD-DELMON et al., 2011). O teste do campo aberto é utilizado para verificar o nível de ansiedade dos animais em função do número de quadrantes percorridos e da quantidade de *rearings* (comportamento exploratório) e *groomings* (imobilidade ao executar autolimpeza) (ARCHER 1973; MATAQUEIRO et al., 2004; NEUMANN et al., 2011). O teste do *rota rod* foi utilizado para mensurar a coordenação motora e modificações no tônus muscular dos animais após o tratamento em função da sua permanência em uma barra giratória (SILVA et al., 2007; GOMES et al., 2010).

A **Tabela 2** mostra que os extratos aquosos do fruto de buriti não produziram alterações comportamentais (*groomings*, *rearings* e número de cruzamentos) ($p > 0,05$) em camundongos submetidos à administração aguda ou subaguda. Semelhantemente, não houve alteração no número de quedas dos animais que receberam amostras do buriti quando submetidos ao teste de coordenação no aparelho *rota rod* quando comparados ao controle negativo (**Tabela 3**, $p > 0,05$). No grupo que recebeu diazepam 1 mg/kg houve uma redução no número de cruzamentos ($27,60 \pm 1,14$), do comportamento exploratório ($13,80 \pm 1,64$) e do tempo de permanência na barra giratória ($168,5 \pm 2,48$ s) e aumento da autolimpeza ($5,20 \pm 0,58$) e do número de quedas ($3,30 \pm 0,37$) quando comparados ao

controle negativo ($53,71 \pm 0,42$; $38,33 \pm 1,66$; $178,7 \pm 0,59$ s; $2,60 \pm 0,94$ e $1,57 \pm 0,20$ respectivamente ($p < 0,05$). A redução do tempo permanência na barra giratória e um consequente aumento no número de quedas comparado com o controle negativo é devido ao relaxamento muscular é típico dos benzodiazepínicos (GOMES et al., 2010).

Tabela 2 – Efeitos dos extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* administrados via oral por gavagem após administração única e subaguda (28 dias) em camundongos *Swiss* no teste do campo aberto.

Toxicidade aguda				
Amostras	Doses (mg/kg)	Cruzamentos	Groomings	Rearings
Controle negativo	-	$55,00 \pm 0,58$	$3,33 \pm 0,57$	$36,67 \pm 1,15$
Polpa	300	$53,33 \pm 1,45$	$3,33 \pm 0,57$	$38,67 \pm 1,53$
	2000	$52,00 \pm 1,53$	$3,66 \pm 0,58$	$34,67 \pm 1,45$
Casca	300	$56,00 \pm 0,58$	$3,00 \pm 0,56$	$35,60 \pm 1,76$
	2000	$56,33 \pm 0,33$	$3,33 \pm 0,33$	$34,66 \pm 0,88$
Endocarpo	300	$56,00 \pm 1,15$	$3,67 \pm 0,54$	$37,00 \pm 1,15$
	2000	$56,00 \pm 0,58$	$3,80 \pm 0,37$	$36,00 \pm 1,15$
Toxicidade subaguda				
Amostras	Doses (mg/kg)	Cruzamentos	Groomings	Rearings
Controle negativo	-	$53,71 \pm 0,42$	$2,60 \pm 0,94$	$38,33 \pm 1,66$
Diazepam	1	$27,60 \pm 1,14^*$	$5,20 \pm 0,58^*$	$13,80 \pm 1,64^*$
Polpa	300	$53,14 \pm 0,80$	$2,75 \pm 0,42$	$39,70 \pm 0,69$
	600	$52,00 \pm 0,82$	$2,92 \pm 0,16$	$38,35 \pm 1,92$
Casca	300	$55,71 \pm 0,28$	$2,54 \pm 0,26$	$38,93 \pm 1,69$
	600	$54,14 \pm 0,77$	$2,57 \pm 0,88$	$37,09 \pm 1,41$
Endocarpo	300	$53,43 \pm 0,68$	$2,97 \pm 0,52$	$34,78 \pm 1,09$
	600	$53,43 \pm 0,99$	$2,86 \pm 0,37$	$38,40 \pm 1,91$

Os valores correspondem à média \pm E.P.M. do número de cruzamentos, *rearings* e *groomings* ($n=3$ para os estudos de toxicidade aguda; $n=7$ para os estudos de toxicidade subaguda). * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*. O controle positivo recebeu Diazepam 1 mg/kg.

Tabela 3 – Efeitos dos extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* administrados via oral por gavagem após administração única e subaguda (28 dias) em camundongos Swiss no teste *rota rod*.

Toxicidade aguda			
Amostras	Doses (mg/kg)	Número de quedas	Tempo de permanência (s)
Controle negativo	-	1,33 ± 0,33	180,0 ± 0,58
Polpa	300	2,33 ± 0,67	177,9 ± 0,61
	2000	1,67 ± 0,67	177,4 ± 0,88
Casca	300	2,00 ± 0,58	179,4 ± 1,22
	2000	1,67 ± 1,15	179,3 ± 0,62
Endocarpo	300	2,06 ± 0,55	176,7 ± 2,86
	2000	2,37 ± 0,32	178,9 ± 0,66

Toxicidade subaguda			
Amostras	Doses (mg/kg)	Número de quedas	Tempo de permanência (s)
Controle negativo	-	1,57 ± 0,20	178,7 ± 0,59
Diazepam	1	3,30 ± 0,37*	168,5 ± 2,48*
Polpa	300	1,71 ± 0,28	178,4 ± 0,39
	600	1,79 ± 0,37	178,5 ± 0,53
Casca	300	1,83 ± 0,26	178,0 ± 0,81
	600	1,86 ± 0,34	178,8 ± 0,61
Endocarpo	300	1,71 ± 0,28	176,8 ± 1,25
	600	1,86 ± 0,90	178,5 ± 0,67

Os valores correspondem à média ± E.P.M. do número de quedas e tempo de permanência dos camundongos sobre a barra giratória (n = 3 para os estudos de toxicidade aguda; n = 7 para os estudos de toxicidade subaguda). *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*. O controle positivo recebeu Diazepam 1 mg/kg.

Apesar da baixa toxicidade aparente do fruto do buriti ao nível de sistema nervoso central, visto que o tratamento não causou alterações na coordenação motora (marcha e reflexo) e no comportamento exploratório dos animais (BIAGIONI et al., 2016), decidiu-se avaliar o perfil neuroquímico de enzimas antioxidantes na área hipocampal dos animais tratados por 28 dias.

A avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais torna-se importante especialmente em órgãos mais vulneráveis ao estresse oxidativo, como o cérebro. Todos os tecidos humanos sofrem lesões oxidativas, porém muitas células do sistema nervoso central não possuem poder mitótico ou o possuem em baixa capacidade e o metabolismo cerebral é

muito dependente de oxigênio e ATP para manutenção das suas funções. Além disso, a presença de íons e de neurotransmissores oxidáveis favorece a ocorrência de danos celulares (BARBOSA et al., 2006; PALA; GURKAN, 2008). Nesse sentido, o organismo se defende usando enzimas de proteção que causam a depleção das espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre (EROs, ERNs e EREs). Outra forma de vencer o efeito deletério dos radicais livres se dá por meio de micromoléculas da dieta que reagem e formam espécies mais inertes, como é o caso do ácido ascórbico, tocoferol, precursores da vitamina A e GSH (BARREIROS et al., 2006; NIKI, 2010). No presente estudo, foram determinados os níveis da superóxido dismutase, da catalase e da glutatona reduzida. A polpa ($14,65 \pm 0,42$ e $13,99 \pm 0,47$ mg/mg de proteína) e o endocarpo ($11,87 \pm 0,50$ e $17,19 \pm 0,44$ mg/mg de proteína) alteraram somente os níveis da enzima catalase em ambas as doses testadas durante 28 dias (300 e 600 mg/kg) quando comparados ao controle negativo ($28,73 \pm 0,07$ mg/mg de proteína), respectivamente (**Tabela 4**, $p < 0,05$).

A catalase tem uma importante ação devido ao metabolismo oxidativo do cérebro e à típica produção de EROs no sistema nervoso. Os níveis de catalase são tipicamente baixos no cérebro e a enzima ocorre no interior de microperoxissomos, sendo esta enzima de defesa a mais específica contra o H_2O_2 produzido sob condições patológicas. Logo, a elevação dos seus níveis pode representar ganho significativo no combate ao estresse oxidativo por indução de sua expressão gênica (BARBOSA et al., 2006; CAROCHO, FERREIRA, 2012) ou como visto após a administração de amostras do buriti, sua redução sugere menor necessidade da enzima por ocasião de baixos níveis de radicais livres.

De um modo geral, os antioxidantes estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos e nas plantas. A busca por novos compostos antioxidantes é o foco principal de muitas pesquisas devido à participação dos radicais livres no surgimento e progresso de doenças crônicas e, sobretudo, ao aumento da expectativa de vida populacional. Os produtos naturais atuam por meio de suas propriedades *scavenger*, bloqueando reações em cadeia com ferro e cobre que levariam à produção de radicais ou modulando positivamente as enzimas de defesa nos sistemas orgânicos, prevenindo doenças (HALLIWELL, 2011; ALAM et al., 2012; LÓPEZ-ALARCÓN, DENICOLA, 2013). Previamente, foi relatado em outro capítulo desta tese a presença de compostos bioativos nos frutos de *M. flexuosa* como fenóis (ácido protocatecuico), flavonoides (quercetina, apigenina), carotenoides e taninos (catequina e epicatequina), os quais são prováveis sequestradores de diferentes classes de radicais livres de oxigênio, nitrogênio e ferro e os responsáveis pela proteção contra hemólise oxidativa e peroxidação lipídica induzidas por 2,2'-azobis-2-amidinopropano, um azocomposto hidrossolúvel que produz radicais peroxila por decomposição térmica.

De fato, estudos anteriores demonstraram que a polpa de buriti da Região Amazônica têm ácido quínico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, p-Cumárico, protocatecúico, catequina, epicatequina, luteolina, apigenina, miricetina, canferol, quercetina, α - e β -caroteno e cis- e trans- γ -caroteno, substâncias estas com grande capacidade antioxidante que podem agir como fatores não enzimáticas de proteção contra o estress oxidativo (LIMA et al., 2009; BATAGLION et al., 2014; CÂNDIDO, SILVA, AGOSTINI-COSTA, 2015; SANTOS et al., 2015; AQUINO et al., 2015).

Tabela 4 – Avaliação dos níveis de catalase, glutaciona reduzida (GSH) e superóxido dismutase no hipocampo de camundongos tratados via oral por gavagem com extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* em doses repetidas (28 dias).

Amostras	Doses		
	Controle negativo	300 mg/Kg	600 mg/Kg
Catalase (mg/mg de proteína)			
Polpa		14,65 \pm 0,42*	13,99 \pm 0,47*
Casca	28,73 \pm 0,07	33,53 \pm 3,89	25,68 \pm 1,91
Endocarpo		11,87 \pm 0,50*	17,19 \pm 0,44*
Glutaciona reduzida (mg/mg de proteína)			
Polpa		66,21 \pm 14,08	59,04 \pm 12,91
Casca	60,99 \pm 3,67	61,76 \pm 4,51	66,84 \pm 12,36
Endocarpo		70,64 \pm 10,78	67,06 \pm 5,83
Superóxido dismutase (U/mg de proteína)			
Polpa		85,90 \pm 3,16	84,36 \pm 1,92
Casca	87,88 \pm 2,39	82,93 \pm 0,68	87,72 \pm 4,79
Endocarpo		85,77 \pm 1,87	86,33 \pm 3,74

Os valores correspondem à média \pm E.P.M. de animais analisados (n=7 animais/grupo) *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido de *Newman-Keuls test*.

Um componente endógeno não enzimático é a glutaciona reduzida (GSH), uma substância antioxidante encontrada principalmente no fígado, cérebro e rins, formada pelos peptídeos glicina, cisteína e ácido glutâmico por ação da enzima glutaciona peroxidase (GPx) e que contribui para a redução dos níveis de peróxidos. A GSH também possui atividade redox contra espécies reativas de oxigênio, característica muito importante quando se trata do radical hidroxila, visto que, não existe sistema enzimático de defesa para esse radical. A GSH também contribui para a manutenção da atividade de antioxidantes

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

exógenos como o ácido ascórbico e o tocoferol. No sistema nervoso pode atuar ainda como neurotransmissor via receptores NMDA (N-metil-D-aspartato). Por conseguinte, sua avaliação no SNC é de extrema relevância (BARBOSA et al., 2006; CAROCHO, FERREIRA, 2012). No presente estudo não foi detectada nenhuma alteração significativa dos níveis de GSH e da enzima superóxido dismutase, sugerindo que não houve indução de neurotoxicidade via radicais livres.

3.3 Parâmetros alimentares

Como os estudos de dose única não permitem avaliar toxicidade acumulativa de um xenobiótico (natural ou sintético), o ensaio toxicológico por doses repetidas tem como finalidade caracterizar o perfil toxicológico de um novo fármaco, alimento ou nutracêutico protótipo utilizando doses que geralmente são estabelecidas a partir das informações produzidas em estudos de toxicidade aguda ou testes piloto para indicação de doses. Uma vez que mortes não foram detectadas nos estudos de toxicidade aguda com amostras do fruto de buriti, as doses de 300 e 600 mg/kg/dia foram escolhidas para as análises de doses repetidas. Geralmente, entre 2 a 3 doses são utilizadas, sendo a mais alta escolhida com a expectativa de produzir efeitos tóxicos observáveis, porém sem provocar morte nem sofrimento intenso nos animais em experimento (EMA, 2010). Em tais estudos de toxicidade subaguda objetiva-se caracterizar o perfil toxicológico de uma substância pela administração repetida. Somente a partir desses estudos é possível obter informações sobre os efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvos, efeitos nas funções fisiológicas, sobre alterações hematológicas, bioquímicas e/ou morfológicas (ANVISA, 2013).

Além de alterações no comportamento, quadros de diarreia e contorções abdominais, a toxicidade sistêmica pode se manifestar também por meio da redução no consumo de água e ração e no tamanho e morfologia de órgãos. De fato, está bem estabelecido que o consumo de substâncias que contenham componentes tóxicos pode refletir em alterações no peso relativo dos diferentes órgãos, causando aumento ou involução dos mesmos (FERREIRA et al., 2009; COSTA et al., 2012; FERREIRA et al., 2016). As **Tabelas 5 e 6** detalham o peso corporal e o peso dos órgãos na base úmida (g/100g de peso corpóreo) de ambos os estudos de toxicidade (agudo e subagudo). Nenhuma amostra testada em regime de dose única ou repetida causou alterações no peso corpóreo, no consumo de água ou de ração, mas houve aumento do peso relativo ($p < 0,05$) dos pulmões do grupo que recebeu polpa ($0,94 \pm 0,06$ g/100g de peso corpóreo) e do fígado dos animais tratados com endocarpo ($5,54 \pm 0,33$ g/100g de peso corpóreo), ambos na dose

de 600 mg/kg/dia, quando comparados com seus controles negativos ($0,67 \pm 0,04$ e $4,39 \pm 0,30$ g).

Tabela 5 – Consumo de água, ração e peso corporal final de camundongos Swiss tratados via oral por gavagem com extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* em dose única e doses repetidas po 28 dias.

Toxicidade aguda				
Amostras	Dose (mg/kg)	Peso corporal (g)	Consumo de ração (g)	Consumo de água (mL)
Controle negativo	-	$30,01 \pm 0,12$	$7,58 \pm 0,26$	$13,33 \pm 0,85$
Polpa	300	$31,09 \pm 0,06$	$7,41 \pm 0,47$	$13,43 \pm 0,97$
	2000	$29,85 \pm 0,06$	$7,32 \pm 0,44$	$14,05 \pm 0,56$
Casca	300	$30,91 \pm 0,05$	$7,31 \pm 0,40$	$13,57 \pm 0,48$
	2000	$30,49 \pm 0,05$	$7,26 \pm 0,36$	$13,48 \pm 0,51$
Endocarpo	300	$31,14 \pm 0,15$	$7,44 \pm 0,28$	$13,51 \pm 0,44$
	2000	$30,52 \pm 0,24$	$7,39 \pm 0,35$	$14,08 \pm 0,55$
Toxicidade subaguda				
Amostras	Dose (mg/kg)	Peso corporal (g)	Consumo de ração (g)	Consumo de água (mL)
Controle negativo	-	$30,09 \pm 0,31$	$8,32 \pm 0,54$	$15,83 \pm 0,37$
Polpa	300	$30,33 \pm 0,15$	$8,55 \pm 0,44$	$16,66 \pm 0,82$
	600	$29,59 \pm 0,13$	$8,00 \pm 0,41$	$16,19 \pm 0,55$
Casca	300	$29,93 \pm 0,15$	$8,35 \pm 0,46$	$16,02 \pm 0,54$
	600	$29,66 \pm 0,09$	$8,53 \pm 0,39$	$16,46 \pm 0,50$
Endocarpo	300	$30,22 \pm 0,11$	$8,49 \pm 0,47$	$15,16 \pm 0,46$
	600	$29,71 \pm 0,17$	$8,42 \pm 0,42$	$15,46 \pm 0,45$

Os valores correspondem à média \pm E.P.M. dos parâmetros (n=3 animais/grupo para os estudos de toxicidade aguda; n=7 animais/grupo para os estudos de toxicidade subaguda). *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*.

Tabela 6 – Peso relativo úmido dos órgãos (g/100 de peso corporal) de camundongos Swiss tratados via oral por gavagem com extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* em dose única e doses repetidas por 28 dias.

Órgãos	Toxicidade aguda						
	Controle negativo	Polpa		Caca		Endocarpo	
		300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg
Baço	0,57 ± 0,07	0,41 ± 0,02	0,50 ± 0,06	0,51 ± 0,07	0,56 ± 0,12	0,51 ± 0,07	0,78 ± 0,17
Coração	0,41 ± 0,02	0,38 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,37 ± 0,04	0,34 ± 0,02	0,45 ± 0,05
Fígado	5,34 ± 0,39	4,14 ± 0,34	4,78 ± 0,31	4,39 ± 0,64	4,43 ± 0,38	4,52 ± 0,22	4,63 ± 0,25
Pulmões	0,76 ± 0,14	0,61 ± 0,02	0,60 ± 0,02	0,70 ± 0,08	0,70 ± 0,05	0,58 ± 0,03	0,70 ± 0,08
Rins	1,28 ± 0,07	1,02 ± 0,03	1,18 ± 0,09	1,16 ± 0,10	1,15 ± 0,13	1,25 ± 0,09	1,06 ± 0,10
Cérebro	1,33 ± 0,14	1,25 ± 0,20	1,29 ± 0,21	1,42 ± 0,05	1,26 ± 0,07	1,39 ± 0,01	1,42 ± 0,03

Órgãos	Toxicidade subaguda						
	Controle negativo	Polpa		Casca		Endocarpo	
		300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg
Baço	0,61 ± 0,02	0,54 ± 0,04	0,70 ± 0,08	0,66 ± 0,05	0,49 ± 0,03	0,57 ± 0,02	0,63 ± 0,05
Coração	0,45 ± 0,04	0,43 ± 0,02	0,48 ± 0,02	0,49 ± 0,03	0,47 ± 0,02	0,50 ± 0,03	0,50 ± 0,03
Fígado	4,39 ± 0,30	4,25 ± 0,08	4,76 ± 0,14	4,69 ± 0,21	4,54 ± 0,24	5,19 ± 0,16	5,54 ± 0,33*
Pulmões	0,67 ± 0,04	0,63 ± 0,03	0,94 ± 0,06*	0,81 ± 0,05	0,74 ± 0,04	0,86 ± 0,05	0,87 ± 0,08
Rins	1,52 ± 0,08	1,20 ± 0,05	1,41 ± 0,09	1,35 ± 0,07	1,33 ± 0,06	1,26 ± 0,09	1,44 ± 0,09
Cérebro	1,56 ± 0,04	1,52 ± 0,03	1,56 ± 0,03	1,57 ± 0,02	1,55 ± 0,01	1,61 ± 0,02	1,64 ± 0,03
Estômago	1,03 ± 0,10	1,01 ± 0,07	1,21 ± 0,09	1,18 ± 0,09	1,07 ± 0,09	1,11 ± 0,08	1,13 ± 0,10

Os valores correspondem à média ± E.P.M. do peso relativo dos órgãos (n=3 animais/grupo para os estudos de toxicidade aguda; n=7 animais/grupo para os estudos de toxicidade subaguda). Os pesos relativos foram calculados com base no peso absoluto do órgão (g) dividido pelo valor do peso do animal vivo (g) x 100. *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*.

3.4 Parâmetros hematológicos, bioquímicos e análises histológicas

Apesar de alterações macroscópicas e fisiológicas não terem sido detectadas, decidiu-se avaliar também o perfil hematológico e bioquímico dos animais, pois tais parâmetros tem capacidade de detectar toxicidade sistêmica precoce e mais sutil causada por xenobióticos. Uma vez que produtos naturais com propriedades medicinais têm efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos e podem até mesmo induzir pancreatite aguda em humanos ou em outros mamíferos e que tais danos à integridade tecidual frequentemente resultam em alterações dos parâmetros séricos de enzimas e metabólitos, o acompanhamento pré-clínico foi realizado como uma forma de pesquisar possíveis danos órgão-específicos (FERREIRA et al., 2009; ANVISA, 2013; BINDER et al., 2016; MORAIS et al., 2016).

A **Tabela 7** detalha os valores obtidos da avaliação dos parâmetros bioquímicos em camundongos *Swiss* submetidos aos ensaios toxicológicos não-clínicos por via oral. Dentre todos os parâmetros séricos analisados, apenas os animais tratados por 28 dias revelaram reduções significativas dos níveis de glicose, de triglicerídeos e do colesterol total nas doses testadas para cada amostra administrada em comparação ao controle negativo ($p > 0,05$). Os valores de referências dos parâmetros bioquímicos de camundongos *Swiss* provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí não estão estabelecidos. Contudo, nessa avaliação verificamos que a glicose de todos os grupos se mostrou elevada. Relatos na literatura apontam que os anestésicos cloridrato de cetamina e xilazina aumentam significativamente a glicemia (BRĂSLAȘU et al., 2007; CARVALHO et al., 2013). Assim, o aumento da glicose em todos os grupos pode estar associado à ação hiperglicêmica desses fármacos, um vez que eles foram usados como anestésicos nos protocolos de coleta de sangue.

Vários fatores podem ter contribuído para a redução dos níveis da glicemia e dos lipídios séricos: a) danos hepáticos, uma vez que o fígado é capaz de sintetizar colesterol e ácidos graxos; b) dano pancreático, por secreção aumentada de insulina; c) ação farmacológica hipolipemiante e hipoglicêmica.

Uma vez que analitos séricos podem ser usados, individualmente ou em combinação, i) para indicar efeitos tóxicos hepatocelulares, como ALT, AST, fosfatase alcalina, colesterol, bilirrubina, ureia e proteínas totais; ii) os níveis de creatinina e ácido úrico (além da ureia) refletem a função renal, e iii) os níveis de glicose e triglicerídeos refletem alterações no metabolismo glicídico e lipídico e no pâncreas (EMANUELLI et al., 2008; VIEIRA et al., 2008; WALLACH, 2009; SPANAUS et al., 2011; BINDER et al., 2016), e que alterações significativas de marcadores renais e hepáticos não foram detectadas,

acredita-se que as amostras do buriti tenham revelado capacidade de redução da glicose e lipídios séricos.

Cabe destacar que o consumo de alimentos ricos em fibras solúveis pode auxiliar na redução da glicemia e do colesterol (MUDGIL; BARAK, 2013), e os bioprodutos de buriti, especialmente a polpa, apresentaram quantidade relevante de fibras solúveis, o que proporciona viscosidade e capacidade para formar géis e/ou atuam como emulsionantes, melhorando o perfil glicídico e lipídico. Outros pontos importantes a destacar são:

- a) Os ácidos graxos presentes no fruto que são tipicamente insaturados, os quais podem atuar favoravelmente na redução dos lipídios séricos (DARNET et al., 2011; AQUINO et al., 2012, 2015, 2016);
- b) Extratos de diferentes partes da *Mauritia flexuosa* (folha, caule e fruto) possuem quantidades significantes de compostos fenólicos, principalmente ácido clorogênico e o protocatecuico (KOOLEN et al., 2013). Ambos reduzem a síntese de ácidos graxos, por inibir a atividade da HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase), sugerindo que eles possuem efeitos biológicos sobre o peso corporal, o metabolismo lipídico e níveis de hormônios relacionados à obesidade como leptina e adiponectina (CHO et al., 2010);
- c) O ácido protocatecuico possui atividade hipoglicemiante e efeitos benéficos sobre o tecido adiposo, devido as suas propriedades anti-inflamatórias e sensibilidade à insulina, de modo que ele se revelou como protetor contra a resistência à insulina (BATAGLION et al., 2014, SCAZZOCCHIO et al., 2015). Este composto fenólico e muitos outros foram identificados nas amostras de polpa, casca e endocarpo de buriti, conforme resultados previamente descritos;
- d) Ratos jovens alimentados de forma suplementar com óleo refinado de buriti mostraram redução do colesterol total, da lipopreína de baixa densidade (LDL), de triglicérides e da enzima aspartato transaminase em comparação àqueles alimentados com dieta adicionada de óleo cru. Algumas análises fitoquímicas demonstraram que em óleo cru extraído da *M. flexuosa* existe maiores concentrações de fitoesteróis, vitaminas, antioxidantes e pigmentos (AQUINO et al., 2012, 2015; MILANEZ et al., 2016), substâncias que estão frequentemente associadas à redução de colesterol sérico e do estresse oxidativo.

Tabela 7 - Perfil bioquímico de camundongos Swiss tratados via oral por gavagem com extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* em dose única e doses repetidas por 28 dias.

Toxicidade aguda							
Parâmetros	Controle negativo	Polpa		Casca		Endocarpo	
		300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg
Glicose (mg/dL)	185,70 ± 1,67	164,70 ± 0,88	173,30 ± 11,14	173,30 ± 9,56	180,30 ± 12,57	193,30 ± 2,19	189,00 ± 6,66
ALT (UI/L)	54,33 ± 0,88	54,33 ± 1,45	56,67 ± 2,33	49,00 ± 3,51	53,67 ± 2,19	53,00 ± 5,00	55,33 ± 0,33
AST (UI/L)	229,00 ± 1,20	230,70 ± 10,73	224,70 ± 12,45	196,30 ± 12,68	223,00 ± 9,07	223,30 ± 21,88	224,70 ± 26,03
Uréia (mg/dL)	43,00 ± 1,00	40,67 ± 2,96	39,33 ± 3,53	38,33 ± 1,86	38,33 ± 1,45	39,00 ± 3,46	40,00 ± 2,08
Creatinina (mg/dL)	0,20 ± 0,00	0,19 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,19 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,00
Ácido úrico (mg/dL)	5,72 ± 0,36	4,13 ± 2,08	4,74 ± 0,30	4,25 ± 0,43	5,42 ± 0,91	4,99 ± 0,95	3,86 ± 0,33
Triglicerídeos (mg/dL)	147,30 ± 5,24	141,30 ± 3,84	139,70 ± 5,92	151,0 ± 2,52	140,7 ± 7,22	150,3 ± 1,86	141,7 ± 12,12
Colesterol Total (mg/dL)	105,70 ± 1,20	104,00 ± 2,08	103,70 ± 0,88	102,7 ± 1,76	104,0 ± 3,21	107,0 ± 0,58	106,0 ± 2,52

Toxicidade subaguda							
Parâmetros	Controle negativo	Polpa		Casca		Endocarpo	
		300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg
Glicose (mg/dL)	187,60 ± 1,25	164,90 ± 0,40*	152,60 ± 1,69*	145,40 ± 1,99*	156,30 ± 1,55*	160,70 ± 4,85*	146,30 ± 1,40*
ALT (UI/L)	56,00 ± 0,97	54,86 ± 0,96	51,86 ± 2,74	50,14 ± 2,43	51,43 ± 2,20	52,57 ± 2,29	51,86 ± 1,75
AST (UI/L)	220,70 ± 9,17	183,10 ± 15,84	174,30 ± 18,73	177,90 ± 13,48	189,90 ± 9,01	190,60 ± 6,70	182,10 ± 9,30
Uréia (mg/dL)	43,29 ± 1,41	38,43 ± 2,68	37,86 ± 1,50	37,86 ± 1,74	40,57 ± 1,48	39,86 ± 1,74	39,86 ± 1,22
Creatinina ((mg/dL)	0,20 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,19 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,00
Ácido úrico (mg/dL)	5,67 ± 0,35	4,22 ± 0,16	4,62 ± 0,36	4,77 ± 0,65	5,27 ± 0,48	4,81 ± 0,50	4,25 ± 0,58
Triglicerídeos (mg/dL)	149,20 ± 2,72	128,50 ± 0,43*	119,30 ± 0,67*	102,20 ± 2,87*	99,33 ± 2,58*	111,80 ± 1,30*	106,30 ± 0,67*
Colesterol Total (mg/dL)	104,90 ± 1,14	79,43 ± 3,36*	82,14 ± 4,58*	87,00 ± 2,01*	87,14 ± 1,62*	82,43 ± 4,52*	90,86 ± 1,97*
HDL (mg/dL)	49,50 ± 1,33	56,43 ± 3,10	54,67 ± 3,15	52,83 ± 2,60	62,33 ± 1,45*	52,83 ± 2,96	52,17 ± 1,70

Aspartato Aminotrasaminase (AST), Alanina Aminotrasaminase (ALT). Os valores correspondem à média ± E.P.M. dos analitos séricos (n=3 animais/grupo para os estudos de toxicidade aguda; n=7 animais/grupo para os estudos de toxicidade subaguda). *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

O perfil hematológico dos animais tratados em regime de dose única (300 ou 2000 mg/kg) não mostraram alterações ($p > 0,05$, **Tabela 8**). Por outro lado, o tratamento subagudo causou mudanças em índices hematimétricos (aumento de VCM e diminuição de CHCM), trombocitose em ambos os grupos tratados com o endocarpo (300 mg/kg/dia: $1.614 \pm 149,6 \text{ mm}^3$; 600 mg/kg/dia: $1.495 \pm 136,4 \text{ mm}^3$), leucocitose (grupo polpa 600 mg/kg/dia: $10.030 \pm 1.567 \text{ mm}^3$; grupo endocarpo 300 mg/kg/dia: $9.333 \pm 0.70 \text{ mm}^3$ e 600 mg/kg/dia: $9.267 \pm 1.217 \text{ mm}^3$) e aumento de leucócitos segmentados (grupo polpa 600 mg/kg/dia: $35,43 \pm 1,96 \%$) quando comparados ao controle negativo ($p < 0,05$).

O hemograma permite avaliar de forma quantitativa e qualitativa os elementos figurados do sangue, é composto pelo eritrograma, leucograma e plaquetograma e tem sido muito usado na pesquisa toxicofarmacológica de novos candidatos a medicamentos (COSTA et al., 2012; ANVISA, 2013). Dentre os parâmetros hematológicos alterados, a leucocitose não é um achado incomum quando se trata da administração de extratos vegetais e outras substâncias estranhas ao organismo (FERREIRA et al., 2015, 2016). Um quadro de leucocitose com neutrofilia pode ocorrer diante de infecções, inflamação imunomediada, necrose tissular e severa hemólise (KUMAR et al., 2004). Sendo o baço o principal órgão responsável pela renovação do sangue periférico, seja de hemácias e plaquetas, ele tem grande capacidade de reter e armazenar células sanguíneas quando esses processos estão ativados, fato que costumeiramente aumenta seu volume (FREITAS et al., 1999; SACHER, McPHERSON, 2000; KUMAR et al., 2004).

No presente estudo, não houve alterações do peso relativo do baço dos animais tratados, o que sugere que o aumento de plaquetas não está relacionado a possíveis danos esplênicos, entretanto, um processo de hepatomegalia foi observada no grupo que recebeu endocarpo na dose de 600 mg/kg/dia. É possível que o parênquima hepático e suas células de *Kupper* tenham se envolvido na detoxificação de substâncias, ao aumentar seu peso relativo após a administração subaguda, mas isso não causou ativação de hemocaterese e nem danos hepatocelulares evidentes, o que explicaria, pelo menos parcialmente, a manutenção dos níveis normais de hemácias e de analitos séricos funcionais do fígado em todos os grupos testados. Alguns estudos sugerem que a ativação de leucócitos demonstra, por outro lado, ação imunoestimulante de produtos naturais, principalmente quando se trata de extratos e frações, uma vez que estes possuem diferentes classes de compostos bioativos que atuam de modo sinérgico (FISCHER et al., 2008; JUIZ et al., 2010). Isso é uma grande vantagem diante da já comprovada ação antimicrobiana de amostras provenientes do fruto de *M. flexuosa* (BATISTA et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2014).

Tabela 8 – Perfil hematológico de camundongos Swiss tratados via oral por gavagem com extratos da polpa, casca e endocarpo de *Mauritia flexuosa* em dose única e doses repetidas por 28 dias.

Toxicidade Aguda							
Parâmetros	Controle negativo	Polpa		Casca		Endocarpo	
		300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg	300 mg/kg	2000 mg/kg
Hemácias (mm ³)	9,49 ± 0,13	9,81 ± 0,21	9,91 ± 0,20	9,52 ± 0,51	9,47 ± 0,33	9,89 ± 0,13	9,51 ± 0,29
Hemoglobina (g/dL)	13,49 ± 0,32	13,67 ± 0,17	13,97 ± 0,37	13,23 ± 0,64	13,40 ± 0,10	14,33 ± 0,30	13,60 ± 0,81
Hematócrito (%)	44,33 ± 0,03	44,40 ± 0,80	48,05 ± 2,72	46,08 ± 4,08	43,00 ± 1,80	48,60 ± 1,92	47,63 ± 2,79
VCM (fL)	47,00 ± 0,58	45,33 ± 1,86	47,00 ± 1,15	48,33 ± 1,86	45,50 ± 0,50	49,10 ± 2,26	50,03 ± 1,54
CHCM (g dL ⁻³)	30,43 ± 0,67	30,80 ± 0,21	29,30 ± 0,80	28,90 ± 1,11	31,15 ± 1,05	29,57 ± 0,80	28,53 ± 0,03
Plaquetas (mm ³)	592,30 ± 1,03	578,30 ± 88,90	666,7 ± 91,2	542,3 ± 25,4	535,5 ± 1,50	633,3 ± 65,1	749,0 ± 115,2
Leucócitos totais (mm ³)	2.772 ± 2,76	2.733 ± 0,59	2.767 ± 2,67	4.100 ± 3,9	3.950 ± 50,0	4.567 ± 348,0	2.810 ± 1,36
Linfócitos (%)	90,33 ± 2,73	82,50 ± 2,50	80,00 ± 2,65	69,33 ± 4,70	81,50 ± 0,50	76,00 ± 5,70	77,67 ± 2,96
Toxicidade Subaguda							
Parâmetros	Controle negativo	Polpa		Casca		Endocarpo	
		300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/kg	300 mg/kg	600 mg/k
Hemácias (mm ³)	9,88 ± 0,34	8,78 ± 0,18	8,99 ± 0,34	9,20 ± 0,44	9,87 ± 0,27	8,50 ± 0,18	8,74 ± 0,21
Hemoglobina (g/dL)	16,20 ± 0,61	14,97 ± 0,24	14,94 ± 0,66	15,16 ± 0,59	16,36 ± 0,59	15,50 ± 0,27	14,96 ± 0,34
Hematócrito (%)	45,97 ± 1,52	43,55 ± 0,85	43,67 ± 1,79	45,83 ± 2,14	45,73 ± 1,19	43,22 ± 0,89	43,28 ± 0,97
VCM (fL)	46,64 ± 0,73	49,67 ± 0,54*	48,55 ± 0,76	49,92 ± 0,44*	49,48 ± 0,42*	47,60 ± 0,62	49,63 ± 0,90*
CHCM (g dL ⁻³)	35,16 ± 0,49	33,20 ± 0,25*	33,32 ± 0,20*	33,12 ± 0,16*	34,52 ± 0,87	33,80 ± 0,23	32,18 ± 0,25*
Plaquetas (mm ³)	1.146 ± 129,5	1.260 ± 89,3	1.308 ± 195,5	1.334 ± 240,4	1.161 ± 134,2	1.614 ± 149,6*	1.495 ± 136,4*
Leucócitos totais (mm ³)	4.357 ± 0,68	8.017 ± 1517	10.030 ± 1.567*	6.600 ± 0,92	7.883 ± 1037	9.333 ± 0,70*	9.267 ± 1.217*
Segmentados (%)	24,00 ± 2,94	28,29 ± 2,96	35,43 ± 1,96*	33,14 ± 3,10	27,00 ± 1,96	29,86 ± 3,46	23,00 ± 3,37
Linfócitos (%)	69,43 ± 2,87	68,50 ± 4,14	61,50 ± 2,38	66,17 ± 5,33	71,17 ± 2,43	67,67 ± 4,67	73,83 ± 4,05

Volume Corpuscular Médio (VCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Proteínas plasmáticas totais (PPT). Os valores correspondem à média ± E.P.M. de amostras de sangue (n=3 animais/grupo para os estudos de toxicidade aguda; n = 7 animais/grupo para os estudos de toxicidade subaguda). *p < 0,05 comparado ao grupo controle negativo por ANOVA seguido por *Newman-Keuls test*.

Caracterização nutricional, potencial quimiopreventivo e toxicidade de *Mauritia flexuosa* (buriti): incentivo à biotecnologia sustentável e bioprospecção de frutos regionais

A ausência de alterações morfológicas ou lesões teciduais evidentes no cérebro, pulmão, baço, fígado, rim, coração e estômago dos animais (**Figura 7**: dose única; **Figura 8**: doses repetidas) confirma os resultados obtidos nas análises bioquímicas e hematológicas descritos acima.

É possível observar no tecido nervoso a presença do corpo de neurônios (soma neuronal) com núcleo aparente e nucléolos não aparentes (**I**) e a substância cinzenta do tecido (**II**), assim como a presença de vasos sanguíneos (**III**). Além disto, no tecido respiratório verificam-se os sacos alveolares (**IV**), bronquíolos respiratórios (**V**) com um epitélio cúbico simples, e os quais constituem as últimas porções da árvore brônquica. Nas amostras do baço, é visível a polpa vermelha com cordões de Billroth (**VI**), polpa branca (**VII**) e seios esplênicos (Sinusóides) (**VIII**). No tecido hepático foi observada o núcleo dos hepatócitos (**IX**) e a região central do lóbulo hepático, composta principalmente pela veia centro-lobular (**X**) incluindo as células epiteliais agrupadas em placas interconectadas e entre os cordões de hepatócitos onde se encontra os capilares (**XI**) sinusóides compondo o estroma hepático. Nessa mesma pesquisa, também foi estudado o tecido renal, tendo sido observado os túbulos renais (**XII**), vasos sanguíneos desse tecido (**XIII**), os glomérulos de Malpighi (**XIV**) e a cápsula de Bowman (**XV**). O tecido cardíaco apresentou parênquima predominantemente formado de fibras musculares cardíacas (**IV**) com estriações transversais podendo identificar o núcleo de miócitos (**XVI**) e alguns capilares (**XVII**). Por fim, observamos a mucosa gástrica (**XVIII**) e músculo liso (**XIX**) do estômago, somente dos animais que receberam doses repetidas da polpa, casca e endocarpo por 28 dias e, assim como nos demais órgãos, alteração histológica não foi observada (**Figuras 7 e 8**).

O fígado e os rins são considerados órgãos-alvo para xenobióticos, uma vez que estas substâncias têm geralmente uma baixa solubilidade em sistemas aquosos e requerem biotransformação em hepatócitos para conversão em metabólitos mais hidrofílicos antes da excreção renal. As reações de biotransformação geralmente seguem um processo de desintoxicação, formando os metabólitos inativos. Porém, muitas substâncias produzidas durante o metabolismo são reativas e tóxicas, podendo causar hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (WILLIAMS et al., 2002; RAMAIAH, 2007). Por outro lado, o fígado e os rins possuem uma pronunciada capacidade regenerativa e ação compensatória: mesmo quando a necrose é encontrada na presença de tecido conjuntivo preservado, há grande possibilidade de restauração tecidual completa (KUMAR et al., 2004).

Figura 7 – Análise histológica do cérebro, pulmões, baço, fígado, rins e coração de camundongos (*Mus musculus*) Swiss tratados com extratos da polpa (PL300 e PL600 mg/Kg), casca (CL300 e CL600 mg/Kg) e endocarpo (EL300 e EL600 mg/Kg) de *Mauritia flexuosa* em dose única via oral por gavagem. Coloração por hematoxilina/eosina e visualização por microscopia óptica. Aumento de 400x. Barra de escala = 10 µm

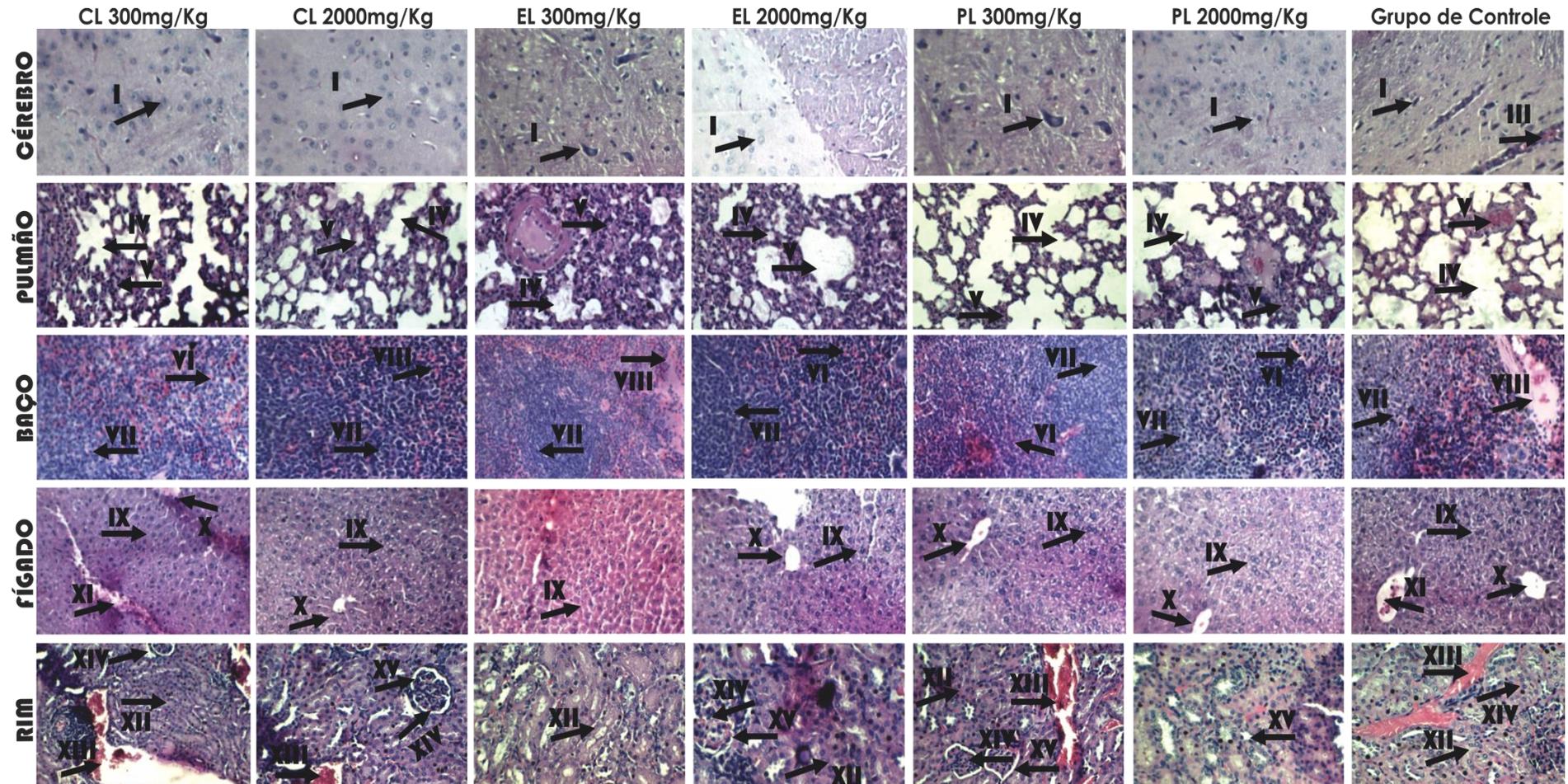
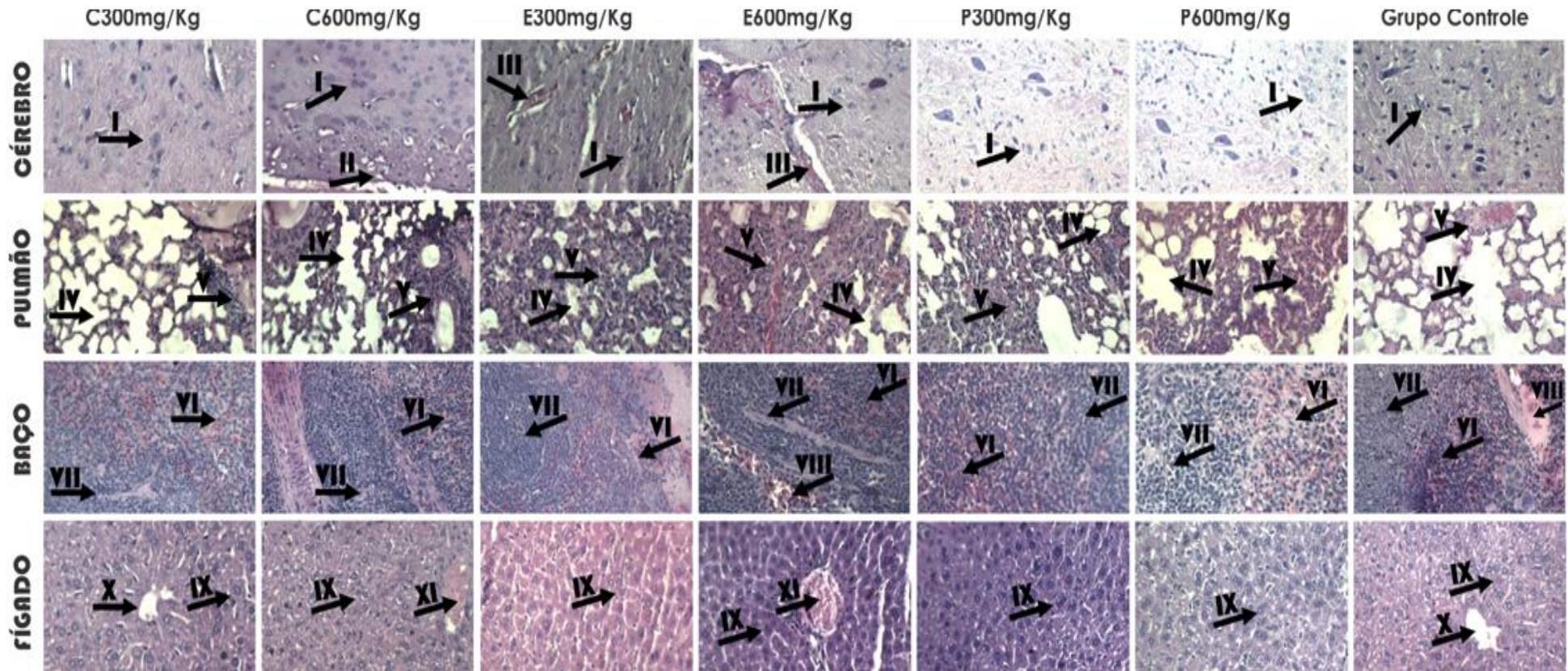
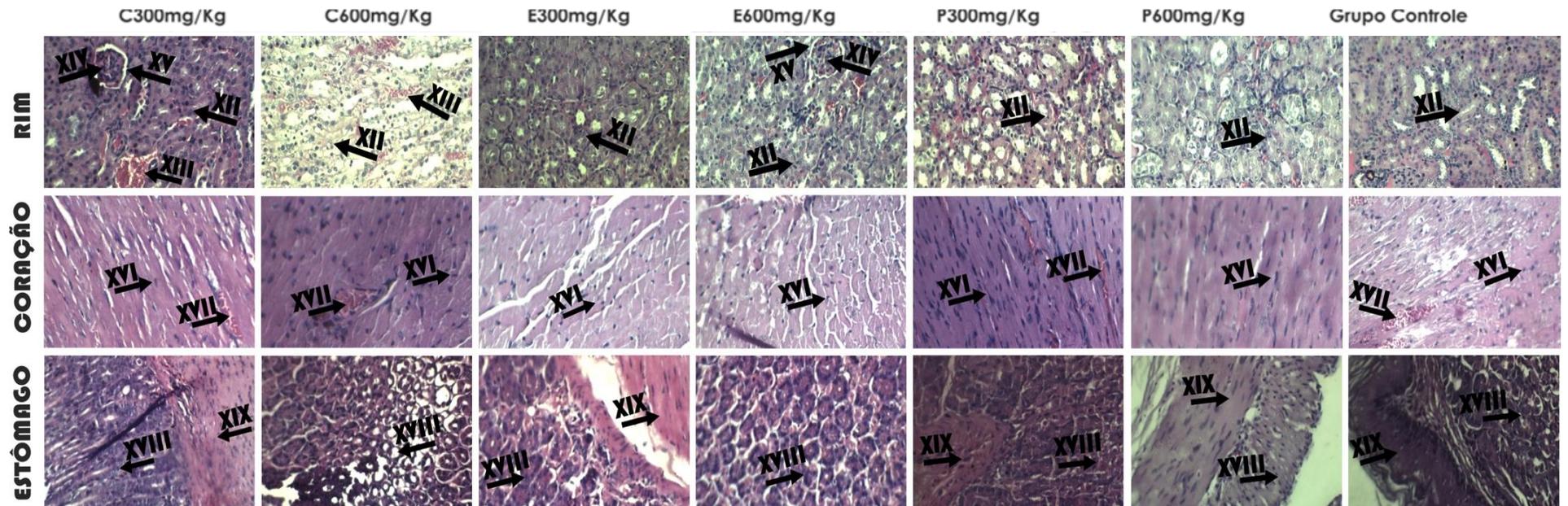


Figura 8 – Análise histológica do cérebro, pulmões, baço, fígado, rins, coração e estômago de camundongos (*Mus musculus*) Swiss tratados com extratos da polpa (P300 e P600 mg/Kg), casca (C300 e C600 mg/Kg) e endocarpo (E300 e E600 mg/Kg) de *Mauritia flexuosa* em dose repetidas por 28 dias via oral por gavagem. Coloração por hematoxilina/eosina e visualização por microscopia óptica. Aumento de 400x. Barra de escala =10 µm



Continuação da **Figura 8** –



A ausência de toxicidade por uma planta pode ser inerente a sua composição química, mas pode também ser explicada por influências biogeográficas, pela parte da planta utilizada para o preparo dos extratos, pelo solvente utilizado (HURST, 1942; OELRICHS et al., 1985), bem como pela variedade da planta (BEUTLER et al., 2008; PEREIRA et al., 2014). Vale ressaltar que a toxicidade de constituintes existentes nos extratos da *M. flexuosa* foram pouco estudados até o momento sejam na forma isolada ou associados como no presente trabalho. Entretanto, já se sabe que a *M. flexuosa* possui diferentes classes de compostos, identificados na polpa dos frutos, assim como nas folhas e raízes e que seus percentuais dependem de condições climáticas e do solo (MORI et al., 2007; CARNEIRO, CARNEIRO, 2011; KOOLEN 2013a, 2013b; SIQUEIRA et al., 2014; AQUINO et al., 2015), fato que exige estudos futuros a fim de comprovar a segurança dos produtos biotecnológicos provenientes de suas partes.

4 CONCLUSÃO

O fruto de *Mauritia flexuosa* revelou ser inerte contra microcrustáceos de *Artemia salina*, baixa toxicidade sistêmica oral quando testado em regime de dose única ou doses repetidas, demonstrado nos parâmetros bioquímicos, hematológicos e histológicos. Além disso, os animais que receberam doses de 300 e 600 mg/Kg de bioprodutos de buriti por 28 dias, apresentaram redução do colesterol e da glicemia, abrindo possibilidades para estudos futuros que vislumbrem o desenvolvimento de um fitoterápico com propriedades hipolipemiantes e hipoglicemiantes, uma vez que esses bioprodutos utilizados nessa pesquisa são ricos em compostos bioativos, frequentemente associados à redução de colesterol sérico e ao estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. 2ª versão. Brasília: ANVISA, 2013.

ADEBAYO, J. O.; YAKUBU, M. T.; EGWIM, E. C.; OWOYELE, V. B.; ENAIBE, B. U. Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rat kidney. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 69-72, 2003.

AHMADI F.; SADEGHI, S.; MODARRESI, M.; ABIRI, R.; MIKAELI, A. Chemical composition, *in vitro* anti-microbial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth. **Food Chemistry Toxicology**, v. 48, p. 1137-1144, 2011.

ALAM, M. N.; BRISTI, N.J.; RAFIQUZZAMAN. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2012.

ARAÚJO, E. J. F.; LIMA L. K. F.; SILVA, O. A.; REZENDE-JÚNIOR, L. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; CARVALHO, F. A. A.; LIMA, F. C. A.; PESSOA, C.; FREITAS, R. M., FERREIRA, P. M. P. *In vitro* antioxidant, antitumor and leishmanicidal activity of riparin A, an analog of the Amazon alkaloids from *Aniba riparia* (Lauraceae). **Acta Amazonica**, v. 46, p. 309-314, 2016.

ARAÚJO, M. G. F., CUNHA, W. R.; VENEZIANI, R. C. S., Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (Solanaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, p. 205-209, 2010.

ASSAM JPA, DZOYEM JP, PIEME CA, PENLAP VB. In vitro antibacterial activity and acute toxicity studies of aqueous-methanol extract of *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **BMC Complementary and Alternative Medicine** v.10, p. 1-7, 2010.

ASHAFA, A. O. T., YAKUBU, M. T., GRIERSON D. S., AFOLAYAN A. J. Effects of aqueous extract from the leaves of *Chrysocoma ciliata* L. on some biochemical parameters of Wistar rats. **African Journal of Biotechnology**, vol. 8, p. 1425–1430, 2009.

AQUINO, J. S., PESSOA, D. C. N. D., ARAÚJO, K. L. G. V., EPAMINONDAS, P. S., SCHULER, A. R., SOUZA, A. G., STAMFORD, T. L. M. Refining of buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) originated from the Brazilian Cerrado: physicochemical, thermal-oxidative and nutritional implications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 212–219, 2012.

AQUINO, J. S., SOARES, J., MAGNANI, M., STAMFORD, T., MASCARENHAS, R., TAVARES, R., STAMFORD, T. Effects of dietary Brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. **Molecules**, v. 20, p. 9054-9070, 2015.

AQUINO, J.S.; VASCOCELOS, MARIA HELENA ; PESSOA, DEBORA CATARINE NEPOMUCENO DE PONTES ; BARBOSA, JULIANA ; PRODO, JOÃO PAULO ; MASCARENHAS, ROBSON ; MAGNANI, MARCIANE ; STAMFORD, TANIA . Intake of cookies made with buriti oil (*Mauritia flexuosa*) improves vitamin A status and lipid profiles in young rats. **Food & Function**, v. 7, p. 4442-4450, 2016.

BATISTA, J. S., OLINDA, R. G., MEDEIROS, V. B., RODRIGUES, C. M. F., OLIVEIRA, A. F., PAIVA, E. S., FREITAS, C. I. A., MEDEIROS, A. D. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v. 42, p. 136-141, 2012.

BATAGLION, G.A.; SILVA, F.M.A.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H.F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396-400, 2014.

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

BARBOSA, L.F.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: o que aprendemos com animais transgênicos e nocautes? **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1352-1360, 2006.

BRASILEIRO, B.G.; PIZZOLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, p.195-202, 2006.

BINDER, C.; KNIBBE, K.; KREISSL, A.; REPA, A.; THANHAEUSER, M.; GREBER-PLATZER, S.; et al. Does acute alcohol intoxication cause transaminase elevations in children and adolescents? **Alcohol**, v. 51, p. 57–62, 2016.

CANDIDO, T.L.N.; SILVA, M.R.; AGOSTINI, T.S.C. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L f) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v.177, p.313-19, 2015.

CARNEIRO, B.T.; CARNEIRO, J.G.M. Frutos e polpa desidratada do Buriti (*M. flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde**, v. 6, p.105-11, 2011.

CAROCHO, M., FERREIRA I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2012.

CAVALCANTE, M. F., OLIVEIRA, M. C. C.e VELANDIA, J. R. e ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-Triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *A. salina* Leach, **Química nova**, v. 23, p. 20-22, 2000.

CAZARIN, K.C.C., CORRÊA, C.L., ZAMBRONE, F.A.D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, 2004.

CHANCE, B., MAEHLY, A.C. Assay catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2,p. 764-768, 1955.

CHANG, H.; SHEEN, L.; LEI, Y. The protective role of carotenoids and polyphenols in patients with head and neck cancer. **Journal of the Chinese Medical Association**, vol. 78, p. 89–95, 2015.

CLARKE, N.; GERMAIN, P.; ALTUCCI, L.; GRONEMEYER, H. Retinoids: potential in cancer prevention and therapy. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 6, p. 1–23, 2004.

CHAMBIAL, S.; DWIVEDI, S.; SHUKLA, K.K.; JOHN, P.; SHARMA, P. Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 28, p. 314-328, 2013.

CHO, A.S.; JEON, S.M.; KIM, M.J.; YEO, J.; SEO, K.L.; CHOI, M.S.; LEE, M.K Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. **Food Chemistry Toxicology**, v. 48, p. 937-43, 2010.

COSTA, J. P.; LOURENÇO, N. V.; SANTOS, C. C. M. P.; TOMÉ, A. R.; SOUSA, G. F.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, R. M. Avaliação da toxicidade aguda e das

alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Revista de Ciências Farmaceuticas Básica e Aplicada**, v. 33, p. 421-428, 2012.

CUNHA, L.C.; AZEREDO, F.S.; MENDONÇA, A.C.V.; VIEIRA, M.S.; PUCCI, L. L.; VALADARES, M.C.; FREITAS, H.O. G.; SENA, A.A.S.; LINO-JÚNIOR, R.S. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 403-411, 2009.

European Medicines Agency. (2010). Guideline on repeated dose toxicity. Disponível em http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/03/WC500079536.pdf . [Consultado em 27-03-2014].

EL FELLS, L.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y. *Artemia salina* as a new index for assessment of acute cytotoxicity during co-composting of sewage sludge and lignocellulose waste. **Waste Management**, v. 50, p. 194-200, 2016.

EMANUELLI MP, LOPES STA, MACIEL RM, GARMATZ BC, TAVARES MO. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase, uréia e creatinina emcoelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p.251-5, 2008.

FAO/OECD - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. **Agricultura Brasileira: Perspectivas e Desafios** (capítulo 2). In: Perspectivas Agrícolas no Brasil: desafios da agricultura brasileira 2015-2024. 21ª ed., 2015. 54 pag. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2015-en

FERREIRA, P. M. P.; CARVALHO, A. F. F. U.; FARIAS, D. F.; CARIOLANO, N. G.; MELO, V. M. M.; QUEIROZ, M. G. R.; MARTINS, A. M. C.; MACHADO-NETO, J. G. Larvicidal activity of the water extract of *Moringa oleifera* seeds against *Aedes aegypti* and its toxicity upon laboratory animals. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, p. 207-216, 2009.

FERREIRA, P.M.P.; COSTA, P.M.; COSTA, A.M.; LIMA, D.J.B.; DRUMOND, R.R.; SILVA, J.N. et al.Cytotoxic and toxicological effects of phthalimide derivatives on tumor and normal murine cells. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.87, p. 313-330, 2015.

FERREIRA, P. M. P.; BEZERRA, D. P.; SILVA, J. N.; COSTA, M. P.; FERREIRA, J. R. O.; ALENCAR, N. M. N.; FIGUEIREDO, I. S. T.; CAVALHEIRO, A. J.; MACHADO, C. M. L.; CHAMMAS, R.; ALVES, A. P. N. N.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. Preclinical anticancer effectiveness of a fraction from *Casearia sylvestris* and its component Casearin X: *in vivo* and *ex vivo* methods and microscopy examinations. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 186, p. 270-279, 2016.

FREITAS, S. H., SÉBE, A. A., CAMARGO, L. M., SIMÕES, M. J. Alterações esplênicas em ratos após o clampeamento do pedículo hepático. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 66, p. 61, 1999.

FISCHER,G., HÜBNER, S.O., VARGAS, G.D.,VIDOR D. Imunomodulação pela própolis. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, p.247-253, 2008.

FREITAS, R. L. M.; SANTOS, Í. M. D. S.; DE SOUZA, G. F.; TOMÉ, A. D. R.; SALDANHA, G. B.; DE FREITAS, R. M. Oxidative stress in rat hippocampus caused by pilocarpine-

induced seizures is reversed by buspirone. **Brain Research Bulletin**, v. 81, p. 505-509, 2010.

GAD, S. C. LD50/LC50 (Lethal Dosage 50/Lethal Concentration 50). **Encyclopedia of Toxicology**, p. 58–60, 2014.

GOMES, P.B.; FEITOSA, M.L.; SILVA, M.I.G.; NORONHA, E.C.; MOURA, B.A.; VENÂNCIO, E.T.; RIOS, E.R.V.; SOUSA, D.P.; VASCONCELOS, S.M.M.; FONTELES, M.M.F.; SOUSA, F.C.F. Anxiolytic-like effect of the monoterpene 1,4-cineole in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 96, p. 287-293, 2010.

GONDIM, J. A. M.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L. S.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 825-827, 2005.

HALLIWELL B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Archives Biochemistry Biophysics**, v. 476, p. 107-12, 2008.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p. 14-22, 1991.

HOUCK, K.A., KAVLOCK, R.J. Understanding mechanisms of toxicity: Insights from drug discovery research. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 277, p. 163-178, 2008.

HOPPS, E.; NOTO, D.; CAIMI, G.; AVERNA, M.R. A novel component of the metabolic syndrome: the oxidative stress. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v. 20, p. 72-77, 2010.

JOSE, R. P., RAMOS, K. P., GELSANO, M. L., NUNEZA, O. M., UY, M. M. Brine Shrimp Lethality Assay of the Ethanolic Extracts of *Antidesma ghaesembilla* Gaertn. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v.4, p. 88-92, 2015.

JORDAN, S.A., CUNNINGHAM, D.G., MARLES, R.J. Assessment of herbal medicinal products: Challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.242, p.198-216, 2010

JUIZ, P. J. L., ALVES, R. J. C., BARROS, T, F.· Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 134-139, 2010.

KEY, T. J.; APPLEBY, P. N.; TRAVIS, R. C.; ALBANES, D.; ALBERG, A. J.; BARRICARTE, A. et al. Carotenoids, retinol, tocopherols, and prostate cancer risk: pooled analysis of 15 studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 102, p. 1142-1157, 2015.

KOOLEN, H. H., DA SILVA, F. M., GOZZO, F. C., DE SOUZA, A. Q., DE SOUZA, A. D. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**; v. 51, p. 467-473, 2013.

KOOLEN, H. H. F., SOARES E.R., da SILVA F. M. A., de OLIVEIRA A. A., de SOUZA A. Q. L., de MEDEIROS L. S., RODRIGUES-FILHO E., CAVALCANTI B. C., KEY, T. J.; APPLEBY, P. N.; TRAVIS, R. C.; ALBANES, D.; ALBERG, A. J.; BARRICARTE, A. et al.

Carotenoids, retinol, tocopherols, and prostate cancer risk: pooled analysis of 15 studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 102, p. 1142-1157, 2015.

KUMAR, V., ABBAS, A. K, FAUSTO, N., ROBBINS, S. L., COTRAN, R. S. **Pathology Basis of Disease**. China: WB Saunders, 2004.

LAURINDO, T. R.; RIBEIRO, K. A. R. Aproveitamento integral de alimentos. **Interciência & Sociedade**; v. 3, p.17-26, 2014.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1-10, 2013.

LUCIO E. M. R. A.; ROSALEN, P.L.; SHARAPIN, N.; SOUZA BRITO, A.R.M. Avaliação toxicológica aguda e *screening* hipocrático da epiisopilosina, alcaloide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9/10, p. 23-25, 2000.

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 46, p. 321-340, 1990.

LIMA, A.L.; LIMA, K.S.; COELHO, M.J.; SILVA, J.M.; GODOY, R.L.; PACHECO, S. Evaluation of gamma irradiation effects on carotenoids, ascorbic acid and sugar contents of buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.). **Acta Amazônica**, v. 39, p. 649 – 54, 2009.

MACHADO, K. C.; OLIVEIRA, G. L. S.; DE SOUSA, É. B. V.; COSTA, I. H. F.; MACHADO, K. C.; DE SOUSA, D. P.; et al. Spectroscopic studies on the *in vitro* antioxidant capacity of isopentyl ferulate. **Chemico-Biological Interactions**, v. 225, p. 47–53, 2015.

MACHADO, J. G. D. C. F. Estratégias de marketing na indústria de amendoim: um estudo em empresas da Alta Paulista. **Latin American Journal of Business Management**, v. 3, p. 21-29, 2013.

MARQUES, T.H.C.; ALMEIDA, A.A.C.; SANTOS, P.S.; MELO, C.H.S.; FREITAS, R.M. Estudos agrônômicos, genéticos, morfoanatômicos, fitoquímicos, toxicológicos e farmacológicos de *Bellis perennis* L. (margarida). **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, v. 19, p. 151-160, 2014.

MAGALHÃES, A.F. et al. Saponins from *Swartzia langsdorffii*: biological activities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, p.713-718, 2007.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A. Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, v. 25, p. 320–332, 1962.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A. The pharmacological evaluation of natural products - General and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8, p. 127-147, 1983.

McLAUGHLIN, J. L.; Chang, C. J.; Smith, D. L. "**Bench-top**" bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update. Rahman A, ed., Studies in Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam, pp. 383-409, 2001.

MCLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C.J.; SMITH, D.L. Simple bench-top bioassays (BS & PD) for discovery of plant antitumor compounds-review of recent progress in human medicinal agents from plants. **Nova York: Kinghorn & Balandrini**, 1993, p.112-37.

MEYER, B.N., FERRIGNI, N.R., PUTNAM, J.E., JACOBSEN L. B., NICHOLS, D.E., McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, p.31-4, 1982.

MILANEZ J.T.; NEVES, L.C.; SILVA, P.M.C.; BASTOS, V.J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R.C.; ROBERTO, S.R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* L. f), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 202, p. 77-82, 2016.

MORTON, D.M. Importance of species selection in drug toxicity testing. **Toxicology Letters**, v.102, p.545-550, 1998.

MORI, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; HASHIZUME, K.. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 1935-1945. 2007.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MORAIS, G. P. ; ALENCAR, M. V. O. B. ; ISLAM, T. ; ARAUJO, L. S. ; GOMES, D. C. V. ; CARVALHO, R. M. ; CORREIA, D. ; PAZ, M. F. C. J. ; FERREIRA, P. M. P. ; CAVALCANTE, A. A. C. M. ; FERRAZ, A. ; GRIVICICH, I. ; PICADA, J. N. . Toxicogenetic profile of rats treated with aqueous extract from *Morinda citrifolia* fruits. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 10, p. 18-28, 2016.

MUDGIL, D.; BARAK, S. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biomedical Macromolecules**, v. 61, p.1– 6, 2013.

NEUMANN, I.D., WEGENER, G., HOMBERG, J.R., COHEN, H., SLATTERY, D.A., ZOHAR, J., OLIVIER, J.D.A., MATHÉ, A.A. Animal models of depression and anxiety: What do they tell us about human condition? **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 35, p. 1357-1375, 2011.

NGUTA, J. M.; MBARIA, J. M.; GAKUYA, D.; GATHUMBI, P. K.; KABASA, J. D.; KIAMA, S. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L.(Artemiidae). **Pharmacology online**, v. 2, p. 458-78, 2011.

NIÑO, J. et al. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of eight Asteraceae and two Rubiaceae plants from colombian biodiversity. **Brazilian Journal Microbiology**, v.37, p.566-570, 2006.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo*. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, p. 503-515, 2010.

OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute oral toxicity: acute toxic class method**. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development, 2001.

OKONKWO, C. O. J.; EHILEBOH, A. D.; NWOBODO, E.; DIKE, C. C. The effects of acute gasoline vapour inhalation on some haematological indices of albino *Wistar* rats. **Journal of Acute Disease**, v. 5, n. 2, p. 123–125, 2016.

PEREIRA, A.C.S.; DIONÍSIO, A.P.; WURLITZER, N.J.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; SILVA, A.M.O.; BRASIL, I.M.; MARCINI-FILHO, J. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. **Food Chemistry**, v. 157, p. 179-185, 2014.

PESSOA, C. O., MORAES, M. O., SALVADOR, M. J., de SOUZA, A. D. L. Mauritic acid: a new dammarane triterpene from the roots of *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae). **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**; v. 27, n. 22, p. 2118-2125, 2013.

PIMENTA, L. P. S. ;PINTO, G. B. ; TAKAHASHI, J. A.; SILVA, L. G. F.; BOAVENTURA, M. A. D. Biological screening of Annonaceous Brazilian Medicinal Plants using *Artemia salina* (Brine Shrimp Test). **Phytomedicine**, Elsevier, v. 10, n. 2–3, p. 209-212, 2003.

PRIETO, A.M.; VIDOSSICH, P.; ROVIRA, C. The reaction mechanisms of heme catalases: An atomistic view by ab initio molecular dynamics. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 525, p. 121–130, 2012.

RAMAIAH, S. K. A. toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1551-1557, 2007.

RECKZIEGEL, P.; BOUFLEUR, N.; BARCELOS, R.C.S.; BENVENÚ, D.M.; PASE, C.S.; MULLER, L.G.; TEIXEIRA, A.M.; ZANELLA, R.; PRADO, A.C.P.; FETT, R.; BLOCK, J.M.; BURGER, M.E. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive cigarette smoke in mice: Beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut industry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1770–1778, 2011.

ROBERTS, R.; CALLANDER, R.; DUFFY, P.; JACOBSEN, M.; KNIGHT, R.; BOOBIS, A. Target organ profiles in toxicity studies supporting human dosing: Does severity progress with longer duration of exposure. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 73, p. 737–746, 2015.

SANTOS, R.N.; SILVA, M.G.V.; FREITAS, R.M. Crysophanol Effects on Lipid Peroxidation Levels and Catalase Activity in Mice Hippocampus after Pilocarpine-induced Seizures. **Journal of Cell Science**, v. 2, p. 2-5, 2011.

SANTOS, M.F.; ALVES, R.R.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas Aceites**, v.66, p. 1-8, 2015.

SACHER, R. A., McPHERSON, R. A. **Widmann's clinical interpretation of laboratory tests**. Washington: Davis Company, 2000.

SEEFF, L.B. Herbal Hepatotoxicity. **Clinical Liver Disease**. v. 11, p. 77-96, 2011.

SIQUEIRA, E.P., ANDRADE, A.A., DE SOUZA-FAGUNDES, E.M., RAMOS, J.P., KOHLHOFF, M., NUNES, Y.R., COTA, B.B. *In vitro* antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, p.1408-1417, 2014.

SILVA, M.I.G.; NETO, M.R.A.; NETO, P.F.T.; MOURA, B.A.; AMARAL, J.F.; SOUSA, D.P.; VASCONCELOS, S.M.M.; SOUSA, F.C.F. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 88, p. 141-147, 2007.

SCAZZOCCHIO, B.; VARI, R.; FILESI, C.; DEL GAUDIO, I.; D'ARCHIVIO, M.; SANTANGELO, C.; IACOVELLI, A.; GALVANO, F.; PLUCHINOTTA, F.R.; GIOVANNINI, C.; MASELLA, R. Protocatechuic acid activates key components of insulin signaling pathway mimicking insulin activity. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, p.1472–81, 2015.

SPANAU, K., KOLLERITS, B., RITZ, E., HERSBERGER, M., KRONENBERG, F., ECKARDSTEIN, A.V. Serum creatinine, cystatin C, and β -trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p.13-23, 2011.

TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; BERTOLINI, D.; CONTE, A. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v. 120, p. 599-560, 2010.

VEIGA JÚNIOR, V.F., MACIEL, M.A.M., PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. V. 28, p. 519-528, 2005.

VIEIRA, R.P., FRANÇA, R.F., CARVALHO, C.R.F., DOLHNIKOFF, M., RIBEIRO, W., MARTINS, R.A.B.L. Efeitos da suplementação oral com creatina sobre o metabolismo e a morfologia hepática em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 14, p. 38-41, 2008.

VIAUD-DELMON, I.; VENAULT, P.; CHAPOUTHIER, G. Behavioral models for anxiety and multisensory integration in animals and humans. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, p. 1391–1399, 2011.

WARHEIT, D. B.; BROWN, S. C.; DONNER, E. M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. **Food and Chemical Toxicology**, v. 84, p. 208–224, 2015.

WALLACH, J. **Interpretação de exames laboratoriais**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009.

WILLIAMS, D. P.; KITTERINGHAM, N. R.; NAISBITT, D. J.; PIRMOHAMED, M.; SMITH, D. A.; PARK, B. K. Are chemically reactive metabolites responsible for adverse reactions to drugs? *Current Drug Metabolism*, v. 3, p. 351-366, 2002.

ZANI, C.L., CHAVES, P.P.G., QUEIROZ, R., MENDES, N.M., OLIVEIRA, A.B., CARDOSO, J.E., ANJOS, A.M.G., GRANDI, T.S. Brine shrimp lethality assay as a Prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Phytomedicine**. v.2, p. 47-50, 1995.

PATENTE

PÁGINAS SUPRIMIDAS – 220 A 222

Considerações Finais

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve o objetivo de caracterizar físico-química e fitoquimicamente os produtos liofilizados de polpa, casca e endocarpo de buriti, assim como realizar investigações de bioacessibilidade, atividade antioxidante, e os testes de toxicidade dose única e doses repetidas, de modo a evidenciar esses bioprodutos em novas aplicações tecnológicas e cujos resultados possibilitaram as seguintes inferências:

- Revelou a importância do monitoramento tecnológico e científico mundial da espécie *M.flexuosa*, e de forma clara demonstrou a importância da utilização do fruto de forma integral, devido os resultados promissores de minerais, ácidos graxos e compostos bioativos bioacessíveis em todas as partes do fruto;
- Apresentou atividade antioxidante importante *in vitro* e *ex vivo*;
- Mostrou segurança não clínica para os animais tratados por via oral em dose única (aguda) e em doses repetidas (subaguda), conforme classificação OECD (2001), a partir da avaliação da manutenção do peso e padrão alimentar dos animais, assim como não alterou os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais, após administra aguda. Entretanto, após administração com doses consecutivas de 300 e 600mg/kg dos extratos, via oral, verificou-se alteração em parâmetros hematimétricos, leucocitose e trombocitose. É necessário realizar mais pesquisas para identificar os possíveis efeitos sobre esses parâmetros;
- Os resultados da avaliação bioquímica, realizada nos protocolos experimentais de toxicidade subaguda, demonstrou potencial farmacológico na redução do perfil lipídico e glicídico, e estudos futuros devem ser desenvolvidos utilizando protocolos experimentais específicos para essas patologias.

Anexos

ANEXO A: Avaliação do Comitê de Ética em Experimentação Animal.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734 _e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br



Teresina, 26 de Setembro de 2014.

Ilmo.

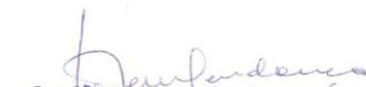
Prof. Dr. RIVELILSON MENDES DE FREITAS.
Departamento: Bioquímica e Farmacologia- CCS/UFPI.

Senhor Pesquisador,

Em reunião na presente data (26 de Setembro de 2014), a Comissão de Ética e Experimentação no Uso de Animais em Pesquisa, da Universidade Federal do Piauí, analisou e **Aprovou** no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, sob o número **054/14**, o projeto de pesquisa intitulado **"Análise pré-clínica e clínica de um bioalimento enriquecido com produtos regionais: incentivo à biotecnologia sustentável e à bioprospecção de agentes hipolipemiantes- IBSBAH"**, sob a sua responsabilidade. Informamos que este projeto tem Período de Vigência de Outubro/2014 à Março/2018, e serão usados 100 Camundongos *Mus musculus* (50 machos e 50 fêmeas).

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEEA/UFPI, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais – Lei Nº 11.794, 8 de outubro de 2008).

Atenciosamente,


Prof.^a Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora

**ANEXO B: Confirmação de PUBLICAÇÃO DE ARTIGO na Revista
Journal of Food Science e publicação na revista – B2**

Capítulo 1 – Artigo Publicado

Volume 81, Issue 11 - November 2016



Editorial

Industrial Application Briefs

James Giese

On the Cover: Feature Article, co-authored by IFT16 Samuel Cate Prescott award winner Lili He, "Evaluation of the Penetration of Multiple Classes of Pesticides in Fresh Produce Using Surface-Enhanced Raman Scattering Mapping" by Tianxi Yang, Bin Zhao, Ruyan Hou, Zhiyun Zhang, Amanda J. Kinchla, John M. Clark, and Lili He. p. T2891.

Concise Reviews/Hypotheses

Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*

Jailane Alves Pereira Freire, Karla Bruna Nogueira Torres Barros, Layana Karine Farias Lima, Julyanna Maciel Martins, Yan de Carvalho Araújo, George Laylson da Silva Oliveira, Jailane de Souza Aquino and Paulo Michel Pinheiro Ferreira

Food Chemistry

Effect of Fermentation Temperature on the Volatile Composition of Kimchi

Sang Pil Hong, Eun Joo Lee, Young Ho Kim and Dong Uk Ahn

ANEXO C: Confirmação de submissão à Revista Food Chemistry – A2

Capítulo 2 – Artigo Submetido

Thank you for your submission to Food Chemistry - Google Chrome

https://outlook.live.com/owa/projection.aspx

Responder | Excluir Lixo eletrônico | ...

De: ees.foodchem.0.3ca83d.8b584931@eesmail.elsevier.com <ees.foodchem.0.3ca83d.8b584931@eesmail.elsevier.com> em nome de Food Chemistry <foodchem@eurofir.org>
Enviado: sexta-feira, 14 de outubro de 2016 23:34
Para: joilane@hotmail.com
Assunto: Thank you for your submission to Food Chemistry

Dear Ms. Pereira Freire,

Your submission entitled Nutritional characterization, mineral profile and quantification of fatty acids and phytosterols by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of buriti pulp and by-products (*Mauritia flexuosa* L.) has been received by Food Chemistry.

All manuscripts submitted to Food Chemistry are evaluated before a decision is made concerning whether or not to assign to a handling editor for consideration for peer review, based on scope, technical criteria and language. The status "Submitted to Journal" indicates that your paper is undergoing the initial technical check. When the manuscript has passed this technical check you will be notified that it has been given a number and assigned to an Editor, and the status in EES will change to "With Editor". Please also be advised that all papers are now being processed using Cross-Check plagiarism detection software (iThenticate).

Food Chemistry receives an average of 150 new manuscripts a week; there is currently a delay of 20-25 days before your manuscript is assessed.

For a more detailed description of the editorial process, please see Paper Lifecycle from Submission to Publication: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/160/p/8045/

How can I track the progress of my submission?

You can track the status of your submission at any time at <http://ees.elsevier.com/FOODCHEM>

Once there, simply:

1. Enter your username: Your username is: joilane@hotmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/FOODCHEM/automail_query.asp

2. Click on [Author Login]. This will take you to the Author Main Menu
3. Click on [Submissions Being Processed]

Many thanks again for your interest in Food Chemistry.

Kind regards,
Elsevier Editorial System
Food Chemistry

ANEXO D: Comprovante de tramitação do pedido de registro de depósito de patente emitido pelo NINTEC-UFPI.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Setor de Convivência L09 e L10
Bairro Ininga CEP: 64049-550 - Teresina-PI Fone/Fax (86)3237-1638

DECLARAÇÃO

Requerente: JOILANE ALVES PEREIRA FREIRE. CPF:839.471.083-20.

Título do Projeto: “**AGENTE ANTIOXIDANTE PARA APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES DE MEDICAMENTOS, COSMÉTICOS E ALIMENTOS A PARTIR DO EPICARPO EM PÓ DA MAURITA FLEXUOSA**”.

Data de Entrada no NINTEC: 14/09/2016.

O Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia – NINTEC, órgão à Universidade Federal do Piauí, através deste instrumento, declara para as finalidades de direito, a pedido do interessado, que se encontra em nosso poder solicitação para depósito de pedido de PATENTE de autoria do(a) Requerente supra nominado(a) e seu respectivo título, também cima descrito, o(a) qual está em fase de análise dos requisitos necessários à sua formalização junto ao INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial.

Informamos ainda que para a consecução da postulação pretendida, o objeto deste pleito deve necessariamente atender às seguintes fases:

- a) pré-análise à patenteabilidade da criação;
- b) busca de anterioridade para verificação do estado da técnica;
- c) envio do resultado da busca de anterioridade, juntamente com cópias de pedido já requerido no Brasil e em outros países, bem como orientações para a redação do pedido de patente (AN 127/1997 – INPI);
- d) solicitação de pagamento das taxas de depósito e abertura de processo no Protocolo Geral para depósito de pedido;
- e) apreciação e assinatura da Reitoria da UFPI.
- f) encaminhamento da documentação ao INPI para depósito.

Salientamos ainda que, para cada fase acima descrita, é necessário tempo hábil para as respostas, a fim de cumprir com fidelidade e segurança a pretensão perquerida.

Por ser verdade, firmo a presente.

Teresina (PI), 28 de setembro de 2016.

Prof.^a Dr.^a Maria Rita de Moraes Chaves Santos
 Coordenadora do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI

Apêndices

A - Produção Científica gerada no período de doutoramento

Phytochemistry Profile, Nutritional Properties and Pharmacological Activities of *Mauritia flexuosa*

Joilane Alves Pereira Freire, Karla Bruna Nogueira Torres Barros, Layana Karine Farias Lima, Julyanna Maciel Martins, Yan de Carvalho Araújo, George Layson da Silva Oliveira, Jailane de Souza Aquino, and Paulo Michel Pinheiro Ferreira

R: Concise Reviews
in Food Science

Abstract: *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae) is a popular Brazilian fruit known as “buriti” and belonging to the category of functional foods. This work reviewed the phytochemistry profile, nutritional and pharmacological activities of *M. flexuosa*. The main bioactive compounds reported to buriti were carotenoids, tocopherols, ascorbic acid, phenolic compounds, fiber, phytosterols, and mono- and poly-unsaturated fatty acids. These compounds were mainly related to antioxidant, hypolipemiant, photoprotector, antiaggregant, antithrombotic, anti-inflammatory, hypoglycemiant, antimicrobial, and antitumor activities. Furthermore, some compounds present in buriti fruit and its properties were tested *in vitro* and *in vivo* and showed biotechnology applications, especially for extraction of fiber, polysaccharides, pigments, antioxidants, and oil. However, the buriti fruit shows great relevance to the development of new products in food, pharmaceutical and chemical industry, this fruit is still underexploited and it has need to expand its production chain and processing to encourage their consumption and utilization.

Keywords: bioactive compounds, Brazilian Cerrado, buriti, functional potential

Introduction

Brazil has a large number of underexploited native and exotic fruit species of potential interest to the agroindustry and a possible future source of income for the local population. Tropical fruit consumption is increasing on the domestic and interna-

tional markets due to growing recognition of its nutritional and properties beneficial effects to health (Rufino and others 2010). Several epidemiological studies have shown that the habit of consuming fruit is associated with a lower risk of chronic diseases (Martínez-González and others 2011; Lim and others 2012; Liu 2013). However, few information about the nutritional value and bioactive compounds of tropical fruits, especially the more exotic species is currently available, is often observed underexploitation of these cultures.

Mauritia flexuosa is a popularly fruit from the Brazilian Cerrado known as “buriti” and is found in all South America, belonging to the Arecaceae family and Lepidocaryciaceae subfamily. In Brazil, it is more common in the states of Pará, Amazonas, Maranhão, Piauí, Bahia, Ceará, and Tocantins (Canudo and others 2010).

The fruit of *M. flexuosa* has several purposes, being used since the pulp until the seeds. However, at the moment, its pulp is more used and it presents multiple nutritional properties that can be favorable to the health (Igbal 2014; Siqueira and others 2014). It is source of iron, calcium, and fiber, being a functional food

in potential (Manhães and Sabaa-Srur 2011). The pulp is also used to product ice creams, candies, creams, jellies, vitamins, jams, wines, and oil, because it has a characteristic and very peculiar flavor (Candido and others 2015; Manhães and others 2015). Its oil has high levels of monounsaturated fatty acids, carotenoids and

vitamin E (tocopherols), in addition to presenting high antioxidant capacity (Aquino and others 2012a, 2012b, 2015; Medeiros and others 2015; Speranza and others 2016). In models animals the buriti oil showed to be a functional food (Aquino and others 2012a, 2012b, 2015; Medeiros and others 2015).

The buriti fruit is inserted in the category of functional foods because of its nutritional composition, especially in the pulp and its oil, there is a high content of bioactive compounds and that acts in the prevention of oxidative stress and chronic diseases and as, antioxidant, anti-inflammatory, and platelet antiaggregant substances (Manhães and Sabaa-Srur 2011; Cordeiro and others 2015). Moreover, the presence of this natural antioxidants, improves the sun protection and is added as natural antioxidants in cosmetics, capillary and pharmaceutical products (Canudo and others 2010; Ferreira and others 2011a; Ferreira and others 2016a).

In this perspective, it is essential expanding the research and knowledge about novel functional foods, since they are considered health promoters because they are associated to the rate decrease of several diseases, such as obesity, heart attack, hypertension, osteoporosis, diabetes, and cancer. So, functional foods and plants medicinal have important properties in the context of public health (Eddouks and others 2012; González-Vallina and others 2013). Therefore, the objective of the study was to develop a systematic and scientific review about *M. flexuosa*, detailing its phytochemistry profile and main pharmacological activities.

Method of Research and Strategy of Search

For a complete and reliable review, primary and secondary resources were used, including original and review articles, books, and government documents written in English, Portuguese, or Spanish (Simões and others 2015). A bibliographic research from

MS 20160975 Submitted 6/18/2016, Accepted 9/12/2016. Author Freire is with Dept. of Nutrition/Northeast Biotechnology Network (RENORBIO), Federal Univ. of Piauí, Picos, Piauí, Brazil. Author Barros is with Dept. of Pharmacy, Catholic Faculty Rainha do Sertão, Quixadá, Ceará, Brazil. Authors Lima, Martins, and Araújo are with Dept. of Pharmacy, Federal Univ. of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil. Author Oliveira is with Dept. of Biochemistry and Pharmacology, Federal Univ. of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil. Author Aquino is with Dept. of Nutrition, Laboratory of Experimental Nutrition, Federal Univ. of Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil. Author Ferreira is with Dept. of Biophysics and Physiology, Laboratory of Experimental Cancerology, Federal Univ. of Piauí, Teresina, Piauí, Brazil. Direct inquiries to authors Freire and Ferreira (E-mails: joilane@hotmail.com and pmjpf@ufpi.edu.br).



Compostos bioativos, ácidos graxos e minerais no mesocarpo da mauritia flexuosa L.: subsídio para utilização do produto em biotecnologia industrial

Joilane Alves Pereira Freire, Vicente Galber Freitas Viana, Luciana Mendes Ribeiro de Sousa, Joaquim Soares da Costa Júnior, Manoel de Jesus Marques da Silva, Arkellau Kenned Silva Moura, Antônia Maria das Graças Lopes Citó, Regilda Saraiva dos Reis Moreira Araújo, Rivelilson Mendes de Freitas

Introdução: No Cerrado, a *M. flexuosa* L. é a espécie que caracteriza as veredas, formando densos buritizais. De ocorrência também, na Amazônia e Pantanal, em solos mal drenados e áreas de baixa altitude, é considerada a palmeira mais abundante do país. Portanto, deve ser mais investigada, a fim de enriquecer a alimentação humana com compostos bioativos, ácidos graxos e minerais. Foi identificado o teor de ácidos graxos e minerais existentes no mesocarpo (polpa liofilizada - PL) de buriti, como subsídio para utilização deste produto em biotecnologia industrial e indústria alimentícia. **Materiais e Métodos:** O mesocarpo, após despolpa, foi liofilizado por 72 horas, em seguida, processado em moinho de facas, para obtenção da farinha. Para a derivatização do extrato e posterior análise do perfil de ácidos graxos foi utilizado metodologia de

HARTMAN; LAGO (1973) e o produto obtido foi analisado por CG-EM, usando instrumento Shimadzu GC-17A/MS-QP5050A. Para identificação de minerais realizou espectrometria de fluorescência de raios X e teor de cinzas para cálculo de minerais, os dados foram transformados em miligramas e comparados às Recommended Dietary Allowances (RDA). **Resultados e Discussão:** Em 1 grama da amostra, obteve 22mg de materiais orgânicos (cinzas) que ao ser analisada foi encontrado um teor de Ca (4,63mg), K (13,02mg), Fe (0,07mg), Zn (0,03mg), Mg (0,11mg) e Cl (2,96mg) na PL do fruto. Esses minerais são importantes pois ao contrário de outros nutrientes, estes oligoelementos não podem ser sintetizados pelos organismos vivos, mas apresentam função de catalizadores em sistemas hormonais e enzimáticos e estão presentes nos fluidos e tecidos corporais. É possível inferir que o consumo de 20g de PL, equivale à ingestão de 92,60mg de Ca, 260,40mg de K, 1,4mg de Fe, 0,6mg de Zn e 2,2mg de Mg, considerando que a RDA (mg/dia) de Ca é de 1000-1300mg/dia e de Zn é de 8-11mg, variando conforme idade. Isso demonstra a importância da ingestão de alimentos enriquecidos com o produto investigado. Quanto ao teor de ácidos graxos (AG), as análises mostraram que a polpa do fruto é rica em AG ômega-9 (cis-octadec-9-enoato de metila), com um percentual de 80,1% identificado desse constituinte químico. O mesmo é conhecido na literatura científica por apresentar relação com a redução do risco de doenças cardiovasculares. **Conclusão:** o mesocarpo liofilizado do fruto de

POLPA E SUBPRODUTOS DO BURITI (*Mauritia flexuosa* L.) COMO POTENCIAIS ALIMENTOS FUNCIONAIS

Thais Helena Figueiredo do BONFIM¹
Joilane Alves Pereira FREIRE²
Jailane de Souza AQUINO¹
Antônia Maria das Graças Lopes CITÓ²
Paulo Michel Pinheiro FERREIRA²

1 - Universidade Federal da Paraíba

2 - Universidade Federal do Piauí

INTRODUÇÃO: O buriti (*Mauritia flexuosa* L.) é um fruto nativo da região amazônica e cerrado brasileiro, que até o momento tem apenas a polpa e o óleo aproveitados para consumo alimentar, os quais vem sendo considerados alimentos funcionais devido ao conteúdo de compostos bioativos. Entretanto, seus subprodutos são pouco explorados. **OBJETIVO:** Avaliar o valor nutricional da polpa (PL), casca (CL) e endocarpo (EL) de buritis liofilizados, a fim de proporcionar sua aplicação e comercialização como um alimento funcional. **METODOLOGIA:** Os frutos de buriti foram coletados na cidade de Água Branca (Piauí, Brasil), selecionados, sanitizados para a realização da despolpa e separação das partes do fruto, obtendo-se a polpa, casca e o endocarpo. Todas as amostras foram liofilizadas a -40°C e pressão 500 mmHg por 72 h em liofilizador (Liotop, São Carlos, Brasil) e processadas em moinho (0,08 mm), para obtenção das amostras em pó. Foram analisados umidade, cinzas, proteína, lipídeos, fibras totais, solúveis e insolúveis e fitoesteróis totais. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey ao nível de 5% de significância. **RESULTADOS:** OEL apresentou maior umidade (5,21%), como também maior teor de cinzas (4,64%). Já o teor de proteínas (5,57%) e lipídios (51,67%) se apresentaram maiores na PL. A maior quantidade de carboidratos (77,53%) foi encontrada na CL, assim como a maior quantidade de fibras totais (50,52%). A PL apresentou o maior percentual de fibras solúveis, enquanto que a CL apresentou o maior teor de fibra insolúvel.

As fibras solúveis têm a propriedade de auxiliar na redução do colesterol sérico e alterar resposta glicêmica dos alimentos, já as fibras insolúveis promovem a melhoria do funcionamento do intestino. A PL, a CL e o EL do buriti atendem os requisitos específicos da legislação brasileira para alegação de propriedade funcional, que preconiza que a porção do produto contenha 3g de fibras totais para produtos sólidos. Ademais, a CL apresentou 1,74 g/100g de fitoesteróis, e três porções diárias (30g) fornecem 1,56 g, atendendo o consumo de 1 a 3 g de fitoesteróis ao dia, preconizado pela legislação vigente. O consumo de tais compostos auxilia na redução da absorção do colesterol. **CONCLUSÃO:** Pode-se concluir que a polpa, a casca e o endocarpo do buriti liofilizados são alternativas viáveis de novos produtos funcionais por serem fontes de fibras, além de conter fitoesteróis em quantidades significativas na casca deste fruto.

Toxicidade preliminar e avaliação da atividade antiproliferativa da polpa e de subprodutos de um fruto do Cerrado brasileiro - Buriti (*Mauritia flexuosa*)

Carla Lorena Silva Ramos, Universidade Federal do Piauí; Joilane Alves Pereira Freire, Universidade Federal do Piauí; Jurandy do Nascimento Silva, Universidade Federal do Piauí; Lara Polyana Silva Ramos, Universidade Federal do Piauí; Ian Jhemes Oliveira Sousa, Universidade Federal do Piauí; Guilherme Antônio Lopes de Oliveira, Universidade Federal do Piauí; Oskar Almeida Silva, Universidade Federal do Piauí, José Roberto de Oliveira Ferreira, Universidade Federal do Piauí; Paulo Michel Pinheiro Ferreira, Universidade Federal do Piauí

Introdução: O desconhecimento da toxicidade dos subprodutos gerados pela agroindústria de alimentos induz a desperdício de toneladas de recursos alimentares. O presente estudo objetivou avaliar a toxicidade de polpa, casca, endocarpo e sementes do fruto do buriti (*Mauritia flexuosa* L.). Foi utilizado o teste de *Artemia salina*, e um segundo teste consistiu na técnica de MTT que tem a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico celular quanto à capacidade antiproliferativa em cultura primária do tumor murino de Sarcoma 180. **Materiais e Métodos:** O

ensaio de toxicidade com *A. salina*. foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Meyer et al (1982), com modificações. No qual foi preparado água do mar artificial, no qual foram colocados os ovos de *A. salina* para eclodir na presença constante de luz e oxigênio por 48 horas. Após esse período, coletou-se 10 larvas de *A. salina* para cada tubo de ensaio. Em seguida, foi preparado soluções mãe a partir dos produtos liofilizados de casca, polpa, semente e endocarpo do buriti (*M. flexuosa*), dissolvidos em água destilada e Tween 80% e me concentrações crescentes das amostras estudadas (50, 250, 500 e 1000 µg/mL). O ensaio foi realizado em triplicata, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas. Além disso, foi realizado o controle positivo com dicromato de potássio. A citotoxicidade foi obtida através do método do MTT (Mosmann, 1983), no qual permite quantificar a porcentagem de células vivas. Células da linhagem Sarcoma 180 isoladas do peritônio de camundongos. Os extratos aquosos das amostras em estudo foram incubadas durante 68 horas junto com as células. Após o período de incubação, foram adicionados 20µL da solução de MTT (5 mg/mL). A doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. Os resultados foram analisados por regressão não-linear utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.0, tanto para MTT, como para o teste de toxicidade em *A. salina*. **Resultados e Discussão:** Para a toxicidade frente náuplios de *A.*