

PAULA FERREIRA DE ARAÚJO
Bacharel em Química de Alimentos (UFPel)

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE NÉCTAR DE AMORA-PRETA (*Rubus* spp.) E
SUA INFLUÊNCIA SOBRE OS LIPÍDIOS SÉRICOS, GLICOSE SANGUÍNEA E
PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HAMSTERS (*Mesocricetus auratus*)
HIPERCOLESTEROLÊMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Orientadores: Dr. Jorge Adolfo Silva – DCTA/UFPel
Dr^a. Rosane da Silva Rodrigues – DCA/UFPel

Pelotas, 2009

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

A663a Araújo, Paula Ferreira de

Atividade antioxidante de néctar de amora-preta (*Rubus* spp.) e sua influência sobre os lipídios séricos, glicose sanguínea e peroxidação lipídica em hamsters (*Mesocricetus auratus*) hipercolesterolêmicos. - Pelotas, 2009.

122f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2009, Jorge Adolfo Silva, Orientador; co-orientador Rosane da Silva Rodrigues.

1. Amora-preta 2. Néctar 3. Capacidade antioxidante 4. Lipídios séricos 5. Peroxidação lipídica I Silva, Jorge Adolfo (orientador) II .Título.

CDD 664.8

Banca examinadora:

Dr. Jorge Adolfo Silva (DCTA/UFPel) – Orientador

Dr^a. Rosane da Silva Rodrigues (DCA/UFPel) – Orientadora

Dr^a. Mirian Ribeiro Galvão Machado (DCA/UFPel) – Examinadora

Dr^a. Leonor Almeida de Souza Soares (DQ/FURG) – Examinadora

Dr^a. Josiane Freitas Chim (DCA/UFPel) - Examinadora

DEDICO

À minha mãe, Mari Lúccia, e ao meu namorado Guilherme Ribeiro, meus grandes amores...

A primeira que abriu as portas do meu futuro, iluminando-me com a luz mais brilhante que encontrou: o estudo. Que em momento algum mediu esforços para minha formação pessoal e profissional, deixando, muitas vezes, suas vontades de lado para tornar as minhas possíveis. A quem agradeço por sempre ter sido firme comigo, me impedindo muitas vezes de seguir o mau caminho, sempre confiando na educação que me deu. A você, mãe querida que não foi somente mãe, mas também pai e amiga, deixo aqui registrado o meu reconhecimento e gratidão.

O segundo com quem descobri o verdadeiro significado da palavra AMOR, e que, depois de alguns momentos difíceis vividos, mostrou ser um grande companheiro. A você, meu grande amor, dedico mais esta vitória conquistada

AGRADECIMENTOS

À orientadora e, acima de tudo, amiga Professora Rosane da Silva Rodrigues, pelo apoio e amizade incondicionais demonstrados em todos os momentos, não só no trabalho como também fora dele, pelo estímulo, dedicação, ensinamentos, colaboração e paciência durante todo o tempo em que trabalhamos juntas. Agradeço também pelas palavras de total importância para que eu conseguisse chegar até aqui, contribuindo de maneira inenarrável para meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Professor Jorge Adolfo Silva, como orientador, pela ajuda e colaboração durante todo o trabalho e, como coordenador do curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pela atenção e auxílio nas questões administrativas.

À minha mãe Mari Lúccia, pela vida em primeiro lugar, eterno incentivo, amor, dedicação, confiança, paciência e principalmente, por estar sempre acreditando no meu sucesso. Peço desculpas pelos momentos em que, em prol deste trabalho e de tantos outros, não pude dispor da atenção que você merecia.

Ao meu namorado e hoje companheiro Guilherme Ribeiro, pelo carinho, amor, amizade e principalmente paciência nos meus “maus momentos”. Graças a sua presença foi mais fácil transpor os dias de desânimo e cansaço.

À minha irmã Juliana, cunhado Marcelo e amada sobrinha e afilhada Júlia, pelo amor, carinho e paciência nos meus momentos de estresse.

Às estagiárias Adriana Rodrigues Machado e Valéria Silva Santos, pela amizade, ajuda e colaboração em todas as etapas deste trabalho.

À Professora Mirian Ribeiro Galvão Machado pela amizade, incentivo, carinho, sugestões e contribuições oferecidas durante a elaboração deste trabalho.

À Professora Leonor Almeida de Souza Soares pelo auxílio e contribuições na execução do trabalho.

Aos Professores e funcionários do programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pelo auxílio em questões científicas, administrativas e pela amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos pelo apoio e amizade, em especial a Angelita Machado Leitão.

À Professora Cristina Gevehr Fernandes e ao mestrando Médico Veterinário Matheus Silveira pelas avaliações histopatológicas realizadas e colaboração.

Ao chefe do Biotério Central e Médico Veterinário Milton Amado pelo apoio e orientações, e a toda sua equipe pela disponibilidade e atenção durante a execução deste trabalho.

Aos acadêmicos do Curso de Química de Alimentos: Amanda Pinto da Silva, Guilherme Danemberg e Lidiane Moreira pela colaboração.

Aos acadêmicos de Medicina Veterinária Rafael Aldrighi Tavares e Alexandra Bichler Borck, pelo apoio técnico.

Aos laboratoristas do Laboratório de Química Orgânica e Química Geral do Instituto de Química da UFPel, pelo apoio técnico.

Ao Professor Willian Peres do Curso de Farmácia e Bioquímica da Universidade Católica de Pelotas e suas pós-graduandas Cristie Noschang e Rachel Krolow, pelo apoio técnico.

Ao CNPq, pela bolsa e à CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus, pelo dom da vida, serenidade, força e sabedoria para que eu pudesse conquistar mais esta etapa.

***"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".
(Fernando Pessoa)***

RESUMO

ARAÚJO, Paula Ferreira de. **Atividade antioxidante de néctar de amora-preta (*Rubus* spp.) e sua influência sobre os lipídios séricos, glicose sanguínea e peroxidação lipídica em hamsters (*Mesocricetus auratus*) hipercolesterolêmicos.** 2009. 123f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

No organismo humano a atividade metabólica normal produz constantemente radicais livres que, paralelamente a outros fatores de risco, entre eles a hipercolesterolemia, podem ser os responsáveis pelo aparecimento de doenças degenerativas. Alguns compostos bioativos presentes na amora-preta (*Rubus* spp.) possuem a capacidade de atuarem como antioxidantes naturais tornando o alimento capaz de minimizar efeitos causados no organismo por espécies reativas do oxigênio. Baseado nesse contexto propôs-se a elaboração de um néctar de amora-preta com propriedades funcionais. O objetivo da pesquisa foi verificar as características físico-químicas e o potencial antioxidante de néctar de amora-preta durante o armazenamento congelado a $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ (90 dias) e o efeito do produto sobre os lipídios séricos (triacilglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL-colesterol), a peroxidação lipídica e a glicose sanguínea em hamsters (*Mesocricetus auratus*), $n=7$, hipercolesterolêmicos. Os grupos experimentais corresponderam às seguintes dietas: grupo Controle (ração comercial adicionada de 0,3% de bitartarato de colina); grupo bebida - B (ração comercial adicionada de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta); grupo colesterol - C (ração comercial adicionada de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol); grupo colesterol + bebida - CB (ração comercial adicionada de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL do néctar de amora-preta). O néctar foi avaliado, a cada 15 dias, durante os 90 dias de armazenamento, quanto aos parâmetros: pH, acidez total, sólidos solúveis totais, viscosidade aparente, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, antocianinas totais e atividade antioxidante. Ao final do experimento biológico as avaliações bioquímicas realizadas nos animais foram: triacilglicerídeos, colesterol total e frações (HDL e LDL- colesterol), glicose no plasma e peroxidação lipídica no soro, cérebro, fígado e intestino delgado. Os resultados mostraram que as características físico-químicas e o potencial antioxidante do néctar de amora-preta mantiveram-se praticamente estáveis ao longo de 90 dias de armazenamento congelado. Concluiu-se que o néctar de amora-preta é capaz de reduzir os níveis séricos de triacilglicerídeos, colesterol total e LDL-colesterol de hamsters normo e hipercolesterolêmicos, não influenciando as concentrações de HDL. Do mesmo modo, foi capaz de diminuir a iniciação das reações de peroxidação lipídica, comprovando seu potencial antioxidante, não somente em sistemas *in vitro*, como também *in vivo*. O produto não interferiu na glicose dos animais estudados.

Palavras-chave: amora-preta, néctar, capacidade antioxidante, lipídios séricos, peroxidação lipídica.

ABSTRACT

ARAÚJO, Paula Ferreira de. **Antioxidant activity of blackberry nectar (*Rubus* spp.) and its influence on serum lipids, blood glucose and lipid peroxidation in hypercholesterolemic hamsters (*Mesocricetus auratus*)**. 2009. 123f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

In humans, the normal metabolic activity produces free radicals that constantly, along with other risk factors, including hypercholesterolemia may be responsible for the onset of degenerative diseases. Some bioactive compounds present in blackberry (*Rubus* spp.) have the ability to act as natural antioxidants can make the food to minimize effects on the body caused by reactive oxygen species. Based on this context it was proposed the establishment of nectar with functional properties, resulting from the processing of blackberry. The aim of this research was to determine the physico-chemical and antioxidant potential of blackberry nectar during frozen storage at $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ (90 days) and the effect of product on the serum lipids (triglycerides, total cholesterol, HDL and LDL-cholesterol), the glucose and lipid peroxidation in hypercholesterolemic hamsters (*Mesocricetus auratus*), $n=7$. The experimental groups were the following diets: Control group (commercial ration plus 0.3% of the choline bitartrate); Drink group - B (commercial ration plus 0.3% of the choline bitartrate + 5mL of blackberry nectar); Cholesterol group - C (commercial ration plus 0.3% of the choline bitartrate and 0.1% cholesterol); cholesterol group + drink - CB (commercial ration plus 0.3% of the choline bitartrate and 0, 1% cholesterol + 5mL of blackberry nectar). The nectar was measured, every 15 days during the 90 days of storage, for pH, total acidity, soluble solids, apparent viscosity, total phenolic compounds, ascorbic acid, total anthocyanins and antioxidant activity. At the end of the biological experiment, were performed in animals the biochemical evaluations: triglycerides, total cholesterol and fractions (HDL and LDL-cholesterol), glucose and lipid peroxidation in serum, brain, liver and small intestine. The results showed that the physico-chemical and antioxidant potential of blackberry nectar remained practically stable throughout the 90 days of frozen storage. We concluded that the blackberry nectar is capable of reducing serum triglyceride, total cholesterol and LDL-cholesterol in normal and hypercholesterolemic hamsters, no influence on concentrations of HDL. Similarly, it was able to reduce the initiation of the reactions of lipid peroxidation, demonstrating their antioxidant potential, in systems not only *in vitro* but also *in vivo*. The product did not affect the glucose of animals studied.

Key-words: blackberry, nectar, antioxidant capacity, serum lipids, lipid peroxidation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Frutos da amoreira-preta (<i>Rubus</i> spp.), cultivar Tupy.....	20
Figura 1.2 – Vias de biossíntese dos compostos fenólicos.....	24
Figura 1.3 – Estrutura do cátion 2-fenilbenzopirílio.....	25
Figura 1.4 – Estrutura das antocianinas encontradas em alimentos.....	26
Figura 1.5 – Estrutura do ácido ascórbico.....	28
Figura 1.6 - Processo de peroxidação lipídica.....	34
Figura 1.7 – Patologias causadas por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio....	36
Figura 2.1 – Fluxograma de processamento de néctar de amora-preta.....	56
Figura 2.2 – Néctar de amora-preta elaborado a partir da mistura de polpa de amora-preta com água mineral na proporção 1:1 (p/p).....	67
Figura 2.3 – Relação de compostos fenólicos, antocianinas totais e ácido ascórbico entre polpa e néctar de amora-preta.....	70
Figura 3.1 – Variação de peso dos animais submetidos a diferentes dietas durante 98 dias de experimento.....	93
Figura 3.2 – Concentração de colesterol total, LDL-colesterol e triacilglicerídeos no soro de hamsters após o consumo de néctar de amora-preta durante 98 dias.....	98
Figura 3.3 – Teores de peroxidação lipídica (nmol MDA.mL ⁻¹ de homogenato) e peso (g) do fígado em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	104
Figura 3.4 – Coloração do fígado de hamsters submetidos a diferentes dietas durante 98 dias: a) ração comercial sem colesterol (grupo Controle) e b) ração comercial acrescida de 0,1% de colesterol (grupo C).....	109
Figura 3.5 – Peso (g) da gordura mesentérica, renal e inguinal em relação ao peso corporal de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	111
Figura 3.6 – Fórmula matemática para o cálculo do índice de conicidade (índice C).....	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Composição físico-química de polpa de amora-preta (<i>Rubus</i> spp.) cv. Tupy	62
Tabela 2.2 – Potencial antioxidante de polpa de amora-preta (<i>Rubus</i> spp.) cv. Tupy	65
Tabela 2.3 - Características físico-químicas de néctar de amora-preta cv. Tupy sob armazenamento congelado (-18±2 °C)	67
Tabela 2.4 – Potencial antioxidante de néctar de amora-preta cv. Tupy sob armazenamento congelado (-18±2 °C)	70
Tabela 2.5 – Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante de néctar de amora-preta submetido a armazenamento congelado (-18±2 °C).....	74
Tabela 3.1 – Composição química de ração comercial para roedores, marca Biotec®	854
Tabela 3.2 – Peso corporal (g), ganho de peso (g), consumo diário de ração, ingestão de ração, coeficiente de eficiência alimentar (CEA), peso do fígado e relação entre peso do fígado e peso corporal em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	94
Tabela 3.3 – Concentrações (mmol.L ⁻¹ de soro) de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose (mmol.L ⁻¹ de plasma) em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	97
Tabela 3.4 – Peroxidação lipídica (nmol MDA.mL ⁻¹ de soro e homogenato) no soro e homogenatos de fígado, intestino delgado e cérebro de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias	101
Tabela 3.5 – Teor de lipídios totais (%) nas fezes de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias	107
Tabela 3.6 – Teor de gordura corporal (g) em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	109
Tabela 3.7 – Medidas antropométricas e Índice de Conicidade de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.....	112

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.1 – Antocianinas frequentemente encontradas em alimentos	27
Quadro 1.2 – Fontes endógenas e exógenas de geração de radicais livres no organismo.....	33

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1.1 – Neutralização de radicais livres.....	25
Equação 2.1 - Equação da lei de Beer.....	59
Equação 2.2 - Capacidade sequestrante (%SRL) do radical DPPH.	60
Equação 3.1 – Cálculo de LDL-colesterol	88
Equação 3.2 – Cálculo do percentual total de lipídios em fezes	91

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE QUADROS	12
LISTA DE EQUAÇÕES	13
INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	20
1 AMORA-PRETA (<i>Rubus</i> spp.).....	20
1.1 Compostos fenólicos.....	21
1.2 Vitamina C (ácido ascórbico)	27
2 NÉCTAR.....	29
3 RADICAIS LIVRES, ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	32
3.1 Aterosclerose.....	36
4 ATIVIDADE PROTETORA DOS ANTIOXIDANTES.....	38
5 AÇÃO FUNCIONAL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	40
6 REFERÊNCIAS.....	43
CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE NÉCTAR DE AMORA-PRETA (<i>Rubus</i> spp.) DURANTE ARMAZENAMENTO CONGELADO.....	53
1 INTRODUÇÃO	53
1.1 Objetivo.....	54
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
2.1 MATERIAL.....	55
2.2 MÉTODOS.....	55
2.2.1 Preparo da matéria-prima	55

2.2.2	Processamento do néctar	56
2.2.3	Avaliações	56
2.2.3.1	Avaliações na polpa de amora-preta (<i>Rubus</i> spp.)	56
2.2.3.1.1	Umidade	56
2.2.3.1.2	Proteínas	57
2.2.3.1.3	Cinzas	57
2.2.3.1.4	Fibra bruta	57
2.2.3.1.5	Extrato etéreo	57
2.2.3.1.6	Carboidratos	57
2.2.3.1.7	Sólidos solúveis totais	57
2.2.3.1.8	Açúcares totais	57
2.2.3.1.9	Açúcares redutores	58
2.2.3.1.10	Açúcares não-redutores	58
2.2.3.1.11	Pectina	58
2.2.3.1.12	pH	58
2.2.3.1.13	Acidez total	58
2.2.3.1.14	Viscosidade aparente	58
2.2.3.1.15	Compostos fenólicos totais	58
2.2.3.1.16	Antocianinas totais	59
2.2.3.1.17	Ácido ascórbico	59
2.2.3.1.18	Atividade antioxidante	60
2.2.3.2	Avaliações no néctar de amora-preta	60
2.2.3.3	Avaliações estatísticas	61
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1	Polpa de amora-preta (<i>Rubus</i> spp.)	62
3.1.1	Composição físico-química	62
3.1.2	Potencial antioxidante	65
3.2	Néctar de amora-preta	67
3.2.1	Características físico-químicas do néctar durante o armazenamento congelado	67
3.2.2	Potencial antioxidante do néctar durante o armazenamento congelado ...	69
3.2.3	Correlação entre os parâmetros físico-químicos e a atividade antioxidante do néctar de amora-preta	74
4	CONCLUSÃO	75
5	REFERÊNCIAS	76
CAPÍTULO III – FUNCIONALIDADE DE NÉCTAR DE AMORA-PRETA (<i>Rubus</i> spp.) SOBRE OS LÍPIDIOS SÉRICOS, GLICOSE SANGUÍNEA E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HAMSTERS (<i>Mesocricetus auratus</i>) HIPERCOLESTEROLÊMICOS. 81		
1	INTRODUÇÃO	81
1.1	Objetivo	83

2 MATERIAL E MÉTODOS.....	84
2.1 Néctar de amora-preta.....	84
2.2 Ensaio biológico.....	84
2.2.1 Animais	84
2.2.2 Dietas	85
2.3 Avaliações bioquímicas	87
2.3.1 Glicose sanguínea.....	88
2.3.2 Triacilglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL-colesterol no soro	88
2.3.3 Peroxidação lipídica em soro	88
2.3.4 Peroxidação lipídica em homogenatos de cérebro, intestino e fígado	89
2.4 Avaliações histopatológicas.....	90
2.5 Avaliação das fezes	90
2.5.1 Determinação de lipídios.....	91
2.6 Medidas antropométricas.....	91
2.7 Avaliação da gordura corporal	92
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	93
3.1 Indicativos biológicos dos animais experimentais.....	93
3.2 Avaliações bioquímicas	96
3.2.1 Níveis séricos de lipídios e de glicose plasmática.....	96
3.3 Avaliações histopatológicas.....	105
3.4 Avaliação das fezes	105
3.5 Avaliação da gordura corporal	109
4 CONCLUSÃO.....	114
5 REFERÊNCIAS.....	12215
6 ANEXO 1	11521
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	1212

INTRODUÇÃO GERAL

Os efeitos tóxicos do oxigênio sobre componentes celulares do organismo têm se tornado objeto de intensa investigação científica nos últimos anos. Estes efeitos são resultantes da oxidação de componentes celulares como cofatores enzimáticos, proteínas, nucleotídeos e lipídios, principalmente ácidos graxos poliinsaturados, mediada por espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), conhecidas genericamente como radicais livres (GILLER e SIGLER, 1995; ROMERO et al., 1998). A reação destas espécies com ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas celulares e lipoproteínas inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, que pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (LIMA e ABDALLA, 2001).

Os radicais livres estão relacionados com uma grande variedade de doenças, incluindo câncer, doenças hepáticas, cardiovasculares e envelhecimento precoce. Na maioria das vezes esta relação se dá pela propriedade que os radicais livres têm de reagir com os ácidos graxos poliinsaturados, servindo como iniciadores do processo de peroxidação lipídica (BABER e HARRIS, 1994).

Juntamente com o estresse oxidativo, a hipercolesterolemia também tem sido um dos principais fatores de risco para o desencadeamento das doenças degenerativas (GRUNDY et al., 2004; PRAÇA; THOMAZ; CARAMELLI, 2004). Observa-se relação direta entre as concentrações plasmáticas de colesterol total e da fração LDL com as doenças coronarianas, sendo que quanto maior a concentração de LDL-colesterol na circulação, maior a probabilidade do surgimento deste tipo de enfermidade (CATER; HELLER; DENKE, 1997; HU et al., 1999; KENDALL e JENKINS, 2004).

Pesquisas recentes indicam que modificações no estilo de vida e principalmente na dieta, adquiriram, nos tempos atuais, importância ímpar no controle das doenças degenerativas, podendo ser considerados adjuntos efetivos à

terapia medicamentosa na prevenção desse tipo de doença (KENDALL e JENKINS, 2004; KNOWLER; BARRETT-CONNOR; FOWLER, 2002).

As frutas, reconhecidas fontes de vitaminas, minerais e fibras, são alimentos nutricionalmente importantes na dieta. Nos últimos anos, maior atenção tem sido dada a estes alimentos uma vez que evidências epidemiológicas têm demonstrado que o consumo regular dos mesmos está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas degenerativas, como as cardiovasculares. O possível efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído principalmente à presença de substâncias com elevado potencial antioxidante, como compostos fenólicos, vitaminas e outras (KAUR e KAPOOR, 2002; MARTINEZ-VALVERDE; PERIAGO; ROS, 2000).

Dentro desse contexto, pequenas frutas como a amora-preta (*Rubus spp.*) vêm despertando a atenção dos consumidores em função dos benefícios que podem proporcionar ao organismo, através de sua composição rica em antioxidantes como os compostos fenólicos.

Entretanto, as substâncias bioativas presentes nos alimentos podem não apresentar *in vivo* a mesma atividade apresentada *in vitro*, podendo muitas vezes não estar totalmente disponíveis, ou ainda serem rapidamente metabolizadas e excretadas, tornando-se assim ineficazes. No organismo vivo as substâncias ativas são absorvidas e metabolizadas podendo perder sua atividade ou até mesmo apresentar uma atividade muito maior do que aquela mensurada através de técnicas analíticas. Fatores como a solubilidade dos compostos frente aos diferentes sistemas do organismo, pH do meio, concentração e sinergismo entre as substâncias podem influenciar no metabolismo das mesmas ao longo do trato gastrointestinal. Assim, é importante relacionar a atividade antioxidante *in vitro* com aquela demonstrada em sistemas *in vivo*, uma vez que *in vitro* observa-se a atividade dos compostos na forma como apresentam-se naturalmente no fruto e, *in vivo*, observa-se a atividade dos compostos absorvidos ou dos seus metabólitos, podendo nem sempre apresentar a mesma intensidade daquele (HORST e LAJOLO, 2009).

Sendo assim, neste estudo objetivou-se avaliar as características físico-químicas e o potencial antioxidante, durante o armazenamento congelado a $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$ (90 dias), de néctar de amora-preta, cv. Tupy, e o efeito do produto sobre os lipídios séricos (triacilglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL-colesterol), a peroxidação lipídica e a glicose sanguínea em hamsters hipercolesterolêmicos (*Mesocricetus auratus*).

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

1 AMORA-PRETA (*Rubus* spp.)

A amoreira-preta é uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, pertencente à família *Rosaceae*, gênero *Rubus*, que produz frutos agregados (denominado drupa), com cerca de 4 a 7 gramas, de coloração negra e sabor ácido a doce-ácido (Fig. 1.1) (FACHINELLO; HOFFMANN; SANTOS, 1994).



Figura 1.1 – Frutos da amoreira-preta (*Rubus* spp.), cultivar Tupy.

Embora existam espécies nativas do gênero *Rubus* no Brasil, a amoreira-preta só começou a ser pesquisada em 1972, pela Embrapa Clima Temperado, sendo a primeira coleção implantada em 1974 no município de Ganguçu (RS) com os cultivares *Brazos*, *Comanche* e *Cherokee* oriundos da Universidade de Arkansas, Estados Unidos (RASEIRA; SANTOS; MADAIL, 1984; RASEIRA, A.; SANTOS; RASEIRA, M., 1992). A partir de 1975, em virtude do programa de melhoramento genético da Embrapa, surgiram os primeiros cultivares brasileiros: Ébano, em 1981 (BASSOLS e MOORE, 1981); Negrita, em 1983 (RASEIRA, A.; SANTOS; RASEIRA, M., 1992); Tupy e Guarani, em 1988 (SANTOS e RASEIRA, 1988) e Caingangue em 1992 (RASEIRA, A.; SANTOS; RASEIRA, M., 1992).

A cultura da amoreira-preta no Brasil apresenta expressivo destaque nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e sul de Minas Gerais, locais onde a ocorrência de períodos de frio favorece o desenvolvimento da

planta (ANTUNES et al., 2000). No Rio Grande do Sul a cultivar Tupy responde por 70% da área cultivada e a floração se dá do final do mês de agosto à segunda dezena de setembro sendo a colheita dos frutos na terceira dezena de novembro à segunda de dezembro. Esta cultivar apresenta plantas de porte ereto e com espinhos, produz frutas grandes (em torno de 6 gramas), de coloração preta e uniforme, sabor equilibrado em acidez e açúcar, textura consistente e firme, semente pequena, película resistente e aroma ativo (SANTOS e RASEIRA, 1988).

A amora é uma fruta altamente nutritiva, contendo em torno de 85% de água, 10% de carboidratos, alguns minerais como cálcio, potássio, sódio, ferro e fósforo, vitaminas (A, B e C) e lipídios, apresentando baixo valor calórico com apenas 52 calorias em 100g de fruta (POLING, 1996). Constitui-se também de outras substâncias de interesse pelo aspecto funcional destacando-se compostos fenólicos como flavonóides, flavanóides e ácidos fenólicos (ANTUNES, 2002; BARBOZA, 1999). Devido aos seus constituintes químicos, com destaque principalmente para os compostos fenólicos e a vitamina C, a amora pode apresentar propriedades funcionais fisiológicas como atividade antioxidante e anticancerígena (HASSIMOTO; GENOVESE; LAJOLO, 2004a), características que estimulam o seu consumo *in natura* ou transformada/adicionada em outros alimentos como geléias, sucos e iogurtes (GRANADA; VENDRUSCULO; TREPTOW, 2001). Segundo Hassimoto et al. (2004b), os frutos da amoreira-preta cultivar Tupy podem apresentar teores de antocianinas de $116,76\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$, compostos fenólicos totais de $373,33\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ e atividade antioxidante em torno de 71,32% de inibição do descoloramento do β -caroteno.

1.1 Compostos fenólicos

Dentre os compostos fenólicos com propriedades antioxidantes presentes na amora-preta destacam-se as antocianinas, sendo a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo as mais representativas. Estão presentes também outros flavonóides como quercetina e kaempferol; flavanóides: catequina e epicatequina; ácidos hidroxicinâmicos: p-cumárico, caféico e ferúlico e os ácidos hidroxibenzóicos: p-hidroxibenzóico e ácido elágico, este último presente em quantidades mais significativas na forma de seu precursor, o ácido gálico (MÄÄTÄ-RIIHINENN;

KAMAL-ELDIN; TÖRRÖNEN, 2004; SIRIWOHARN et al., 2004). Entretanto, a capacidade antioxidante da amora tem sido atribuída, em especial, aos flavonóides antociânicos, os quais têm demonstrado agirem como quelantes do oxigênio singlete e triplete, sequestrantes de radicais livres e inibidores enzimáticos (GARCIA-ALONSO et al., 2004; SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários naturalmente presentes em plantas e frutas. São parcialmente responsáveis pela cor, sabor, aroma e adstringência de muitos alimentos, além de estarem envolvidos no processo de crescimento e reprodução das plantas e caracterizarem propriedades antimicrobianas e inseticidas nas mesmas (GIBNEY; MACDONALD; ROCHE, 2006). A presença de compostos fenólicos específicos em cada fruta pode estar relacionada a fatores como o tipo de fruta, variedade, localização geográfica da planta, condições ambientais e climáticas durante o crescimento da mesma (fertilização, temperatura, luz e água), assim como com a incidência de doenças (KING e YOUNG, 1999; ROSS e KASUM, 2002). Os níveis de compostos fenólicos podem ser influenciados por fatores como condições de amadurecimento e armazenamento pós-colheita dos frutos e por processos tecnológicos utilizados na elaboração e armazenamento dos produtos derivados (VENDRAMINI e TRUGO, 2004; ZADERNOWSKI; NACZK; NESTEROWICZ, 2005).

A síntese de compostos fenólicos está intimamente ligada ao metabolismo dos açúcares. O açúcar é de importância vital no acúmulo de compostos fenólicos nos vegetais, pois sem esta fonte de energia disponível a formação desses compostos fica reduzida (ROSIER, 2003). Após o início dos processos de maturação dos vegetais ocorrem profundas mudanças no metabolismo dos mesmos, que englobam a redução da via da glicólise e conseqüentemente da produção de ácido málico, sendo a partir deste momento que a célula passa a armazenar açúcar. Durante o desenvolvimento da planta, uma vez que os açúcares se encontram em fase de armazenamento, podem ocorrer vias metabólicas alternativas para o acúmulo dos compostos fenólicos. A glicólise via piruvato é uma delas e é responsável também pelas principais funções vitais da planta como respiração, formação de ácidos e desenvolvimento. Outra via metabólica bastante conhecida é a via das pentoses na qual encontra-se o aminoácido fenilalanina que, comandado

pela concentração hormonal da planta, direciona a energia da mesma para o acúmulo de proteína e portanto, ao crescimento vegetativo. Quando ocorre uma variação das taxas hormonais do vegetal o metabolismo pela via das pentoses faz com que a fenilalanina contribua para a formação da enzima fenilalanina-amonialise (PAL), enzima ligada ao aparecimento da coloração dos frutos. A ocorrência de baixas temperaturas noturnas, que provocam uma alteração hormonal na planta, é que determina a parada do crescimento vegetativo e o início da maturação com seus consequentes acúmulos de açúcar e de substâncias fenólicas assim como de alguns precursores de aroma. A ação da enzima "PAL" promove o deslocamento da via metabólica, que antes proporcionava o crescimento, para a via do ácido cinâmico que direciona a energia do meio para dois pontos distintos e importantíssimos: formação de lignina (para reserva da planta) e formação do chalcone (precursor comum dos taninos – compostos fenólicos de baixo peso molecular responsável pela adstringência dos frutos, flavonóides e antocianidinas). A via das pentoses (Fig. 1.2), também conhecida como via chiquímica, permite verificar a disposição do aminoácido fenilalanina, podendo ser utilizado para a proteossíntese durante o crescimento da planta ou para a formação de compostos fenólicos. Portanto, para que ocorra síntese dos compostos fenólicos, tem-se uma concorrência entre os compostos primários indispensáveis a vida celular e os secundários, que só aparecem em quantidades maiores se as células reduzirem sua atividade metabólica. Sempre que ocorrer redução do crescimento vegetativo, graças a um desequilíbrio hormonal, ocorre o favorecimento de acúmulo de compostos fenólicos. Se a planta crescer ao mesmo tempo em que amadurecerem os frutos este acúmulo será reduzido (ROSIER, 2003).

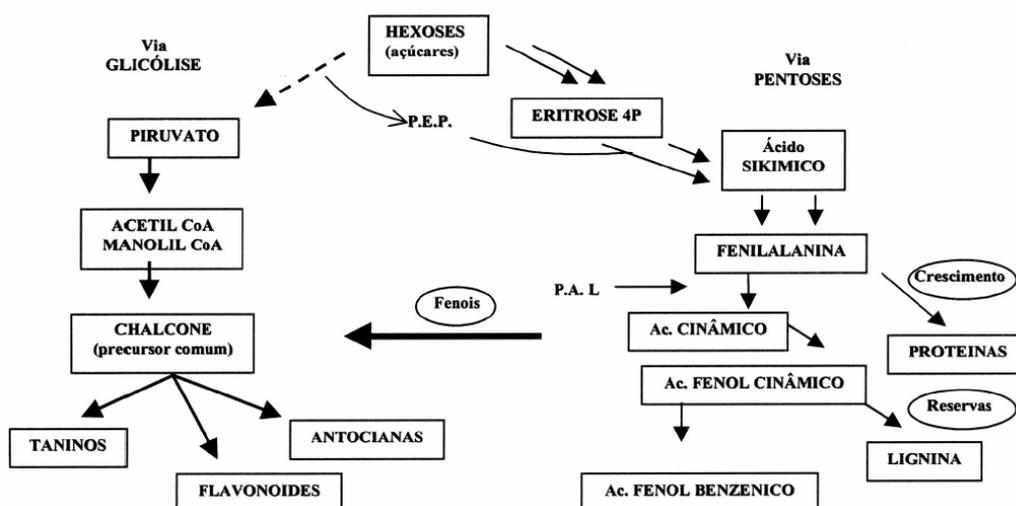


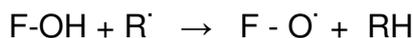
Figura 1.2 – Vias de biossíntese dos compostos fenólicos.

Fonte: ROSIER, 2003; p.139.

A funcionalidade dos compostos fenólicos está relacionada principalmente à sua ação sequestradora de radicais livres e com isso, podem estar associados à possível prevenção do risco da ocorrência de algumas doenças, como aterosclerose, alguns cânceres, patologias cerebrais e inflamações crônicas recentemente estudadas em diversas pesquisas científicas (SIRIWOHARN et al., 2004; ZADERNOWSKI; NACZK; NESTEROWICZ, 2005).

Os radicais livres presentes no organismo causam dano oxidativo em diferentes moléculas, como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, estando envolvidos na fase de iniciação de doenças degenerativas. Os componentes celulares não são protegidos totalmente por antioxidantes endógenos, e está cada vez mais estabelecido que antioxidantes obtidos da dieta são indispensáveis para a defesa do organismo contra a oxidação e que, portanto, têm importante papel na manutenção da saúde (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos vem sendo relacionada à presença de grupos hidroxila em sua estrutura química, fator considerado crítico para a neutralização de radicais livres (ELISIA; POPOVICH; KITTS, 2007). Essa neutralização é primariamente atribuída à alta reatividade dos substituintes hidroxilas (OH^{\cdot}) que neutralizam os radicais livres conforme a Eq. 1.1, onde F-OH é o composto fenólico e R^{\cdot} o radical livre.



Equação 1.1 – Neutralização de radicais livres.

A ligação “OH” apresenta momento dipolar extremamente alto, uma vez que o oxigênio é mais eletronegativo que o hidrogênio, possuindo em sua última camada pares de elétrons isolados que projetam-se no espaço longe do núcleo carregado positivamente, favorecendo a separação de cargas. Devido a isso na ligação O-H o hidrogênio é mais facilmente liberado (McMURRY, 2006).

Assim, o grupamento hidroxila cede um átomo de hidrogênio e um elétron para o radical livre, estabilizando-o. Devido à capacidade do grupo aromático presente na estrutura dos compostos fenólicos se reestruturar frente ao desaparecimento de elétrons, a estrutura do mesmo se mantém estável (KUSKOSKI et al., 2004) sem que seja formado um novo radical livre na célula.

As antocianinas são compostos fenólicos responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho, presentes em flores e frutos (ABE et al., 2007), representando importante papel na prevenção ou retardo de inúmeras doenças por suas propriedades antioxidantes (KUSKOSKI et al., 2004; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002). Fazem parte do grupo dos flavonóides e são compostos fenólicos que apresentam como estrutura básica o núcleo flavilium (cátion 2-fenilbenzopirílio) (Fig. 1.3).

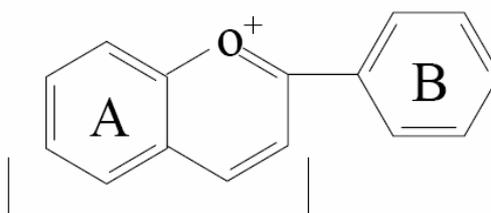
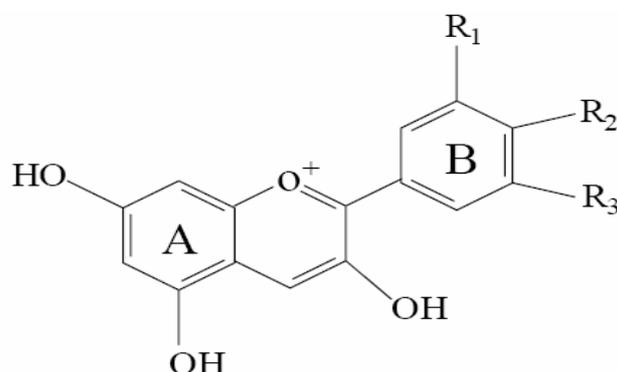


Figura 1.3 – Estrutura do cátion 2-fenilbenzopirílio.

Fonte: VOLP et al., 2008, p.144.

A molécula de antocianina (Fig. 1.4) é constituída por duas ou três frações, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácidos orgânicos (FRANCIS, 1989). Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e dessas apenas seis

(pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000).



Antocianinas	R ₁	R ₂	R ₃
Cianidina	OH	OH	–
Peonidina	OCH ₃	OH	–
Delfinidina	OH	OH	OH
Malvinidina	OCH ₃	OH	OCH ₃
Petunidina	OCH ₃	OH	OH

Figura 1.4 – Estrutura das antocianinas encontradas em alimentos.

Fonte: VOLP et al., 2008, p.144.

Antocianinas livres são raramente encontradas em plantas, ocorrendo comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula (FRANCIS, 2000). A glicosilação (substituição glicosídica) pode ocorrer em várias posições, sendo observada com maior frequência na posição 3 (Fig. 1.4); um segundo açúcar quando presente na molécula encontra-se na posição 5 (BROUILLARD, 1982). Glicose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose são os açúcares mais comumente ligados as antocianidinas, ocorrendo como monoglicosídeos, diglicosídeos e triglicosídeos glicosilados diretamente na aglicona (FRANCIS, 1989).

Os açúcares das antocianinas podem aparecer acilados pelos ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico, *p*-hidroxibenzoico, sinápico, malônico, acético, succínico, oxálico e málico (FRANCIS, 1989). Os substituintes acila encontram-se usualmente ligados à hidroxila do açúcar na posição 3 (Fig. 1.4) e com menor frequência nas posições 4 e 6.

A metoxilação, substituição dos radicais R₁ e R₃ (Fig. 1.4), é mais frequente nas posições 3' e 5' e menos comum na 5 e 7. É importante salientar que

antocianina natural nunca apresenta as hidroxilas das posições 5, 7 e 4' substituídas ao mesmo tempo, pois um dos grupos hidroxila deve permanecer livre numa dessas posições para a formação da estrutura quinoidal, responsável pela cor (BROUILLARD, 1982).

Os diferentes grupos R e R' e açúcares ligados nas posições 3, 5 e 7, assim como os ácidos a eles ligados, caracterizam os diferentes tipos de antocianinas presentes em alimentos, sendo que as mais comuns estão no quadro 1.1.

Quadro 1.1 – Antocianinas frequentemente encontradas em alimentos

Antocianina	Fontes
Pelargonidina-3-glicosídeo	Morango
Cianidina-3-glicosídeo	Morango, amora, ameixa, jambolão
Petunidina-3-arabinosídeo	Cebola roxa
Peonidina-3-glicosídeo	Cereja, jabuticaba, uva, ameixa
Delfinidina-3,5-diglicosídeo	Berinjela

Fonte: TERCI e ROSSI, 2002.

As antocianinas, como a maioria dos pigmentos naturais, apresentam grande instabilidade. Normalmente são mais estáveis sob condições ácidas, porém podem se degradar por qualquer mecanismo que leve à formação de compostos escuros e/ou insolúveis (JACKMAN e SMITH, 1992). Esta degradação pode ocorrer durante o processamento e/ou armazenamento do alimento, sendo que os principais fatores que influenciam na estabilidade destes pigmentos são: pH, temperatura, presença de oxigênio e enzimas, além da interação com outros componentes do alimento como ácido ascórbico, íons metálicos (principalmente Cu e Fe), açúcares e copigmentos (BOBBIO e BOBBIO, 1992; JACKMAN e SMITH, 1992).

1.2 Vitamina C (ácido L-ascórbico)

A vitamina C (ácido L-ascórbico) é um composto hidrossolúvel presente na amora-preta que, em conjunto com os compostos fenólicos, contribui para a funcionalidade da fruta, podendo atuar como co-fator para enzimas envolvidas na biossíntese do colágeno, hormônios adrenais, carnitina e neurotransmissores (NRC, 2000). Além disso, é capaz de aumentar a absorção e utilização do ferro e atuar como antioxidante reduzindo as concentrações de radicais livres geradas pelo

metabolismo celular (MAGNONI, 2004; MAY, 1999). Entretanto, segundo Agar; Streif; Bangerth (1997) e Barboza (1999), a amora apresenta baixos conteúdos desta vitamina (cerca de $20\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) principalmente quando comparada a outras pequenas frutas (*berries*) como morango ($63,6\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) (TACO, 2006).

No plasma a vitamina C pode doar elétrons para diversas espécies reativas (peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, peroxila e radical superóxido) eliminando-as antes que reajam com as membranas e lipoproteínas biológicas (IMEN, 2008). Baseado neste contexto explica-se a capacidade que a vitamina C apresenta em atuar na prevenção da oxidação lipídica da HDL. Esta é a fração antiaterogênica do colesterol circulante, sendo que a sua redução sérica está fortemente associada ao maior risco de doenças aterotrombóticas (IMEN, 2008). Além de ser responsável pelo transporte reverso do colesterol, a HDL exibe vários outros efeitos cardioprotetores, incluindo a preservação da função endotelial, inibição da atividade antiplaquetária, propriedade anticoagulante e fibrinolítica (IMEN, 2008).

O ácido ascórbico é considerado um poderoso antioxidante porque sua molécula em geral apresenta a propriedade de se oxidar primariamente às demais moléculas, impedindo e protegendo-as da oxidação. O ácido ascórbico, de fórmula química $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, cuja estrutura pode ser observada na Fig. 1.5, apresenta quatro hidroxilas (OH) livres que interagem com as moléculas dos radicais livres. Essa interação resulta na remoção de um átomo de hidrogênio entre as hidroxilas localizadas na posição C=C com posterior eliminação de uma molécula de água. A dupla ligação entre os carbonos faz com que a molécula do ácido ascórbico se mantenha estável e ao mesmo tempo possa atuar contra os radicais livres reduzindo a velocidade das reações de oxidação (STADLER, 1999).

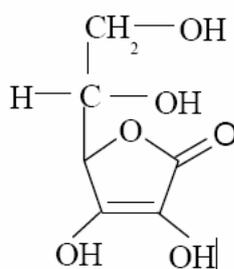


Figura 1.5 – Estrutura do ácido L-ascórbico.

Fonte: BOBBIO e BOBBIO, 1992, p.188.

A vitamina C é extremamente instável e perde suas propriedades principalmente em função do pH e da presença de oxigênio, calor e luz, variáveis de total importância na estabilidade deste composto durante o processamento e armazenamento dos alimentos (MAEDA et al., 2007). Esta vitamina também se degrada quando exposta a açúcares, aminoácidos livres e na presença de enzimas como ascorbato-oxidase, sendo a reação acelerada pela presença de frutose, frutose-6-fosfato, frutose-1,6-difosfato, sacarose, frutose caramelizada e de íons metálicos (Cu^{2+} e Fe^{3+}), dando diferentes produtos de degradação como furfural, hidroximetilfurfural, ácido dehidroascórbico, ácido dicetogulônico, CO_2 e H_2O_2 (ARAÚJO, 2004; SILVA, 1999).

2 NÉCTAR

Néctar de fruta, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Decreto número 2.314 de 04/09/1997, é a bebida não fermentada, obtida da diluição em água potável da parte comestível do vegetal e açúcares ou de extratos vegetais e açúcares, podendo ser adicionada de ácidos, e destinada ao consumo direto (BRASIL, 1997). O produto diferencia-se de suco principalmente em função da concentração de polpa adicionada, cujo conteúdo é superior neste último (BRASIL, 2003). Assim, embora não haja legislação específica para suco ou néctar de amora-preta, as características de elevada acidez, sabor forte e coloração intensa da fruta direcionam sua utilização na elaboração de néctares e não de suco, objetivando menores prejuízos a qualidade sensorial do produto ou mantendo a características sensoriais associadas à fruta.

Sucos e néctares são produtos finais da transformação de algumas frutas e hortaliças cujo mercado interno e externo tem evidenciado grande expansão. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR, 2008), o volume de suco produzido no Brasil cresce gradativamente desde os últimos 4 anos. A produção foi da ordem de 333.435 milhões de litros no ano de 2005; 388.473 milhões em 2006; 472.187 milhões em 2007 e até os primeiros 9 meses de 2008 foram 384.394 milhões de litros produzidos (ABIR, 2008). A demanda por esses produtos tem aumentado nos últimos anos principalmente em virtude da manutenção das características mais próximas da fruta

in natura que o produto proporciona, maior interesse demonstrado pelos consumidores em uma dieta saudável, além da facilidade de utilização do mesmo na forma pronta para consumo, requisito de praticidade muito importante no estilo de vida da sociedade moderna (LEITÃO, 2007).

O consumo de sucos de frutas no Brasil encontra-se em plena expansão em todas as regiões, pois o País possui mais de 20 pólos de fruticultura distribuídos nas regiões Norte (principalmente Amazônia), Sul (frutas de clima temperado) e Nordeste (culturas irrigadas no semi-árido). Inúmeras dessas frutas apresentam aroma e sabor destacados e composição relevante em compostos funcionais, particularmente antioxidantes naturais como carotenóides, polifenóis e ácido ascórbico (CAMARGO et al., 2007).

O elevado teor de umidade da amora, a alta taxa respiratória e a estrutura frágil da casca tornam-na sensível ao armazenamento e manuseio, apresentando vida pós-colheita relativamente curta e, com isso, consumo *in natura* menos frequente (ANTUNES; DUARTE FILHO; SOUZA, 2003). Assim, os frutos geralmente são consumidos na forma de polpa, geléia, sucos, entre outros (MOTA, 2006).

Granada; Vendruscolo; Treptow (2001) produziram suco de amora-preta por extração com prensa hidráulica, com e sem adição de enzimas, mantido a temperatura ambiente. Moreno-Alvarez et al. (2002) prepararam suco de amora com 12% de polpa, armazenado a temperatura de refrigeração (7°C). Mota (2006) obteve suco de amora-preta com a utilização de um extrator caseiro, armazenando o produto sob temperatura ambiente (16-18°C) e de refrigeração (8°C). Leitão (2007) elaborou néctar de amora pela mistura de polpa e água potável na proporção 1:1 (v/v) e armazenando-o a 4 e a 16°C.

A conservação dos sucos e néctares de frutas é determinada pelo controle das alterações que podem comprometer a estabilidade dos mesmos. As alterações originadas normalmente estão relacionadas a fatores de natureza microbiológica, química ou enzimática inerentes à própria fruta ou associadas às condições de processamento, embalagem e armazenamento dos produtos, sendo responsáveis pelo comprometimento das características sensoriais (sabor, aroma, cor, consistência) e nutricionais dos mesmos (LEITÃO, 2007).

Refrigeração e congelamento são métodos adequados para a conservação de sucos de frutas, contribuindo positivamente tanto microbiológica quanto nutricionalmente para a manutenção de alimentos seguros e estáveis (FRANCO e LANDGRAF, 1996; SOUZA FILHO et al., 1999).

O uso do congelamento para a preservação de alimentos data dos tempos pré-históricos. Os homens primitivos observaram que em temperaturas climáticas baixas os alimentos perecíveis podiam ser mantidos quase indefinidamente e com a mesma qualidade durante o tempo em que permaneciam congelados (COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003). Durante o congelamento as alterações de origem microbiana deixam de ter importância significativa dentre as alterações desencadeadas nos alimentos, passando a ocorrer, mesmo que em baixa velocidade, principalmente mudanças físicas e químicas. Em sucos de frutas congelados as alterações mais frequentes são de cor e aroma, em função das enzimas que ainda podem manifestar alguma atividade, ocasionando principalmente modificações nas características sensoriais do produto (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998). Entretanto, dentre os vários métodos existentes de conservação de alimentos, é o que proporciona, juntamente com o uso da embalagem correta, menores danos aos frutos e produtos derivados, tanto do ponto de vista nutricional como sensorial (NEVES FILHO, 1986).

Lima; Melo; Lima (2005) avaliando o efeito da temperatura de congelamento (-18°C) sobre a estabilidade das antocianinas em polpa de pitanga verificaram uma degradação dos pigmentos (8,7%) apenas aos 60 dias de armazenamento, mantendo-se praticamente constante até o final do experimento (12 meses). Embora a degradação inicial tenha sido estatisticamente significativa, os autores mencionam que a coloração do produto não apresentou alterações visualmente perceptíveis. De acordo com eles a estabilidade do pigmento antociânico durante o congelamento de alimentos com elevado teor de compostos fenólicos pode ser decorrente da presença de outros fenólicos que podem atuar como copigmentos (LIMA; MELO; LIMA, 2002). Davies e Mazza (1993) mencionam que a complexação molecular de antocianinas com outros compostos fenólicos é o principal mecanismo de estabilização da cor durante o armazenamento. Lopez; Mattietto; Menezes (2005), também avaliando a estabilidade de polpa de pitanga, verificaram que durante 90

dias de armazenamento congelado (-18°C) praticamente não houve alterações significativas ($p \leq 0,05$) de cor e em especial de sabor e aroma no produto.

Yamashita et al. (2003) estudaram a estabilidade da vitamina C em diversos produtos de acerola e verificaram que quando comparadas as frutas *in natura* com a polpa processada e o suco pasteurizado houve uma diminuição nos teores desta vitamina na ordem de 10 e 34%, respectivamente. A justificativa para as diferenças de degradação demonstradas foi principalmente em função do tipo de processamento aplicado aos produtos derivados, associando uma maior degradação no suco ao processo de pasteurização aplicado. Ainda neste estudo, avaliando a estabilidade da vitamina frente ao congelamento (-12 e -18°C), foi verificada uma diminuição de 43 e 19% (respectivamente) para os frutos *in natura* e de 3% para a polpa processada em ambas as temperaturas utilizadas. O suco mantido a temperatura ambiente apresentou um déficit de 32% de vitamina C ao final do armazenamento o que mostra a importância das baixas temperaturas, principalmente o congelamento, na manutenção dos compostos químicos presentes nas frutas e produtos derivados.

3 RADICAIS LIVRES, ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os efeitos tóxicos do oxigênio sobre componentes biológicos têm-se tornado objeto de intensa investigação científica nos últimos anos. Estes efeitos são resultantes da oxidação de componentes celulares como tióis, cofatores enzimáticos, proteínas, nucleotídeos e lipídios (principalmente ácidos graxos poliinsaturados), mediada por espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), conhecidas genericamente como radicais livres (GILLER e SIGLER, 1995; ROMERO et al., 1998).

O oxigênio é considerado o principal fornecedor de espécies reativas. Durante o metabolismo aeróbio mais de 95% do oxigênio consumido decorre da produção de energia nas mitocôndrias celulares; o restante, quando não é totalmente reduzido à água, pode sofrer redução por um número menor de elétrons, ao longo da cadeia respiratória, produzindo espécies reativas de oxigênio numa sequência de reações de oxi-redução (LEITE e SARNI, 2003; URSO e CLARKSON, 2003).

Um radical livre é qualquer espécie com existência independente que contenha um ou mais elétrons não pareados ocupando orbitais externos, sendo que um elétron não pareado é aquele que ocupa um orbital atômico ou molecular isoladamente (STOKER e KEANEY, 2004). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas (SOARES, 2002).

As EROs incluem todos os radicais do oxigênio, como íon superóxido (O_2^\bullet), radical hidroxila (OH^\bullet), radical alquila (L^\bullet), alcóxila (RO^\bullet) e peróxila (ROO^\bullet). Nas ERNs estão incluídos além do peroxinitrito ($ONOO^-$), o óxido nítrico ($\bullet NO$) e o radical dióxido de nitrogênio ($\bullet NO_2$) (MANCINI-FILHO, 2006). O ânion peroxinitrito ($ONOO^-$), o ácido hipocloroso ($HOCl$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2) e o ozônio (O_3) não são radicais livres, mas podem induzir reações radicalares no organismo, sendo por isso também considerados como espécies reativas (PATEL et al., 1999).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos (quadro 1.2). Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido a maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1994). Assim, o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres, tem sido chamado de estresse oxidativo (STOKER e KEANEY, 2004).

Quadro 1.2 – Fontes endógenas e exógenas de geração de radicais livres no organismo

Endógenas	Exógenas
Respiração aeróbia Inflamações Peroxisomos Enzimas do citocromo P450	Ozônio Radiações gama e ultravioleta Medicamentos Dieta Cigarro

Fonte: BIANCHI e ANTUNES, 1999.

A reação de espécies reativas de oxigênio com ácidos graxos poliinsaturados presentes em membranas celulares e nas lipoproteínas inicia um processo em

cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação que pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (LIMA e ABDALLA, 2001).

A peroxidação lipídica pode ser definida como uma sequência de reações bioquímicas resultantes da ação dos radicais livres sobre os lipídios insaturados das membranas celulares, gerando principalmente radical alquila, alcoxila e peroxila (BENZIE, 1996). As alterações nas membranas levam a mudanças na permeabilidade, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações do DNA, oxidação do LDL-colesterol e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (BABER e HARRIS, 1994; VACA; WILHEM; HARMS-RINGDAHL, 1988).

Nos sistemas biológicos a peroxidação lipídica pode ocorrer principalmente por duas vias: enzimática, envolvendo as ciclooxigenases e lipoxigenases na oxigenação dos ácidos graxos; e não enzimática, que envolve a participação de EROs, ERNs e metais de transição (AL MEHDI et al., 1993; PORTER; CALDWELL; MILLS, 1995).

O processo da peroxidação lipídica inicia-se quando espécies reativas removem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poliinsaturados (LH) das membranas ou de partículas de lipoproteínas formando um radical lipídico (L•). Este por sua vez, para se estabilizar, sofre um rearranjo molecular formando um dieno conjugado que reage com o oxigênio produzindo radical peroxil (LOO•), o qual na presença de outro lipídio (LH) ou outro doador de elétron forma um hidroperóxido lipídico (LOOH) e um outro radical lipídico (L•) (Fig. 1.6) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; SJÖDIN; WESTING; APPLE, 1990; STOKER e KEANEY, 2004).

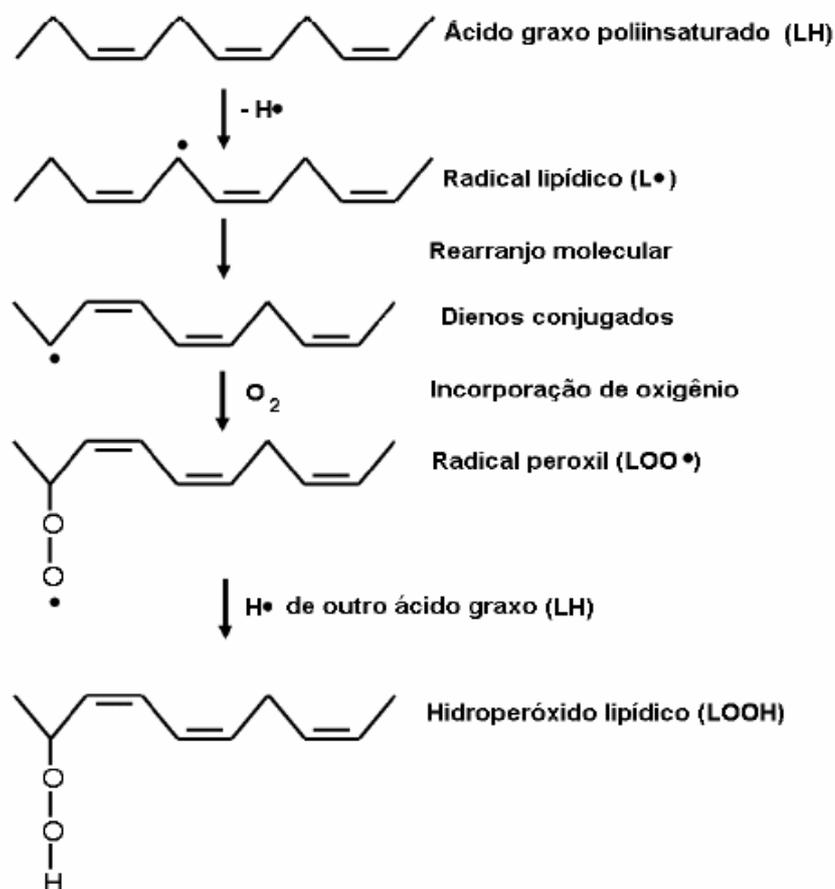


Figura 1.6 – Processo de peroxidação lipídica.

Fonte: FONSECA, 2007, p. 27.

O radical lipídico (L \bullet) é reativo e pode iniciar a formação de novos radicais livres e assim continuar as reações em cadeia. O hidroperóxido lipídico pode sofrer degradação catalisada por metais de transição, como Feⁿ⁺ e Cuⁿ⁺, e produzir ainda mais radicais reativos, como o radical peróxido (LOO \bullet) ou o radical alcóxil (LO \bullet), os quais irão continuar as reações em cadeia e produzir compostos como o malondialdeído (MDA) (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003; SJODIN; WESTING; APPLE, 1990; STOKER E KEANEY, 2004).

Aldéidos insaturados, como o malondialdeído, são capazes de se ligarem covalentemente a grupos nucleofílicos presentes em DNA, peptídeos e proteínas, provocando alterações nas funções dessas moléculas, fato que tem sugerido o envolvimento desses compostos em vários processos degenerativos (HALLIWELL e CHIRICO, 1993) como câncer, doenças hepáticas, aterosclerose e envelhecimento

(Fig. 1.7) (SU et al., 2007). Assim, o malondialdeído tem sido frequentemente utilizado como marcador da peroxidação lipídica em sistemas biológicos (SJODIN; WESTING; APPLE, 1990).

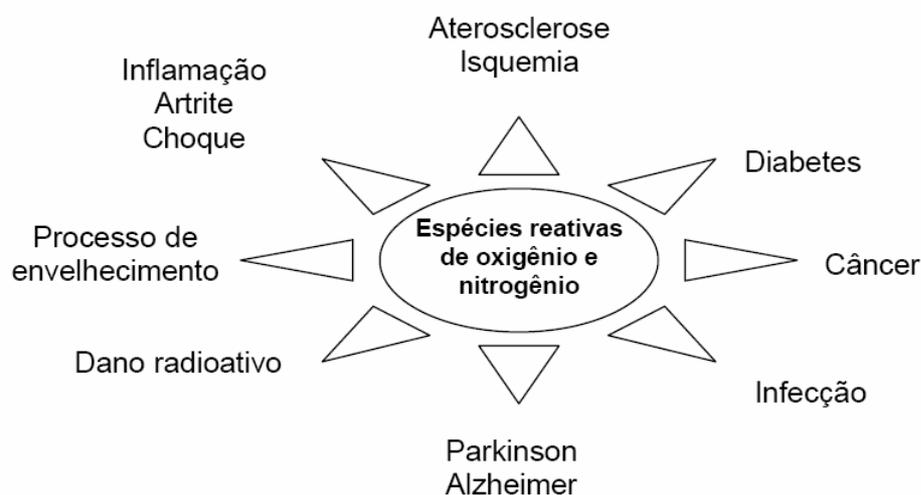


Figura 1.7 – Patologias causadas por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.

Fonte: ARAÚJO, 2007, p.26.

3.1 Aterosclerose

As doenças cardiovasculares vêm representando uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade em todo o mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que até 2015 vinte milhões de pessoas morrerão de doenças cardiovasculares, principalmente a partir de infarto do miocárdio e acidentes vasculares cerebrais (WHO, 2009).

A aterosclerose é a principal responsável pela incidência de doenças cardiovasculares. Trata-se de uma doença multifatorial que consiste em uma complexa e crônica inflamação que ocorre nas artérias de médio e grande calibre como as artérias coronárias (VANDERLAAN; REARDON; GETS, 2004), associada a fatores de risco como hipertensão, obesidade, hipercolesterolemia, dislipidemia, diabetes, tabagismo, sedentarismo e lesão ao endotélio (SPITELLER, 2005). De acordo com Steinberg (2002) a inflamação é uma resposta a um agente que desestabiliza a homeostase do local envolvido. Witztum (1993) sugere que o processo aterosclerótico possa ser iniciado por danos no endotélio vascular,

produzidos por modificações oxidativas da LDL-colesterol. Essa injúria leva a alterações do endotélio que desencadeiam interações celulares com monócitos, plaquetas, células musculares lisas e linfócitos, dando início à lesão aterosclerótica (ROSS, 1999). Evidências clínicas, genéticas e epidemiológicas demonstram que quanto maior a elevação da concentração plasmática de LDL maior o fator de risco para a doença aterosclerótica (COOPER; MULLER; HUMPHRIES, 2005).

A lipoproteína de baixa densidade (LDL) é um dos principais transportadores da molécula de colesterol no sangue. Isso porque o colesterol não é solúvel no sangue e necessita de uma sistemática de transporte especial. Para que essas moléculas atinjam as células nos mais diferentes tecidos do organismo humano elas são envolvidas por outras moléculas com características anfifílicas, isto é, que possuem regiões polares e outras apolares na mesma molécula. A LDL possui uma superfície hidrofílica (que a torna solúvel no sangue) e um interior hidrofóbico, onde o colesterol se localiza (GIBNEY; MACDONALD; ROCHE, 2006).

Quando a LDL está intacta (não modificada) ela é reconhecida por receptores na membrana celular, sendo interiorizada e desestruturada, com isso liberando o colesterol necessário para o metabolismo celular. Por outro lado, se a LDL é modificada por agentes externos, por exemplo agentes oxidativos, deixa de ser reconhecida pelos receptores celulares e com isso, tem-se desestabilizada a homeostase do local envolvido. Os compostos aldeídos formados durante o processo de oxidação de ácidos graxos insaturados presentes nas membranas lipoprotéicas, em especial o malondialdeído (MDA), 4-hidroxinonenal (HNE) e o hexanal, reagem com a porção ϵ -amino dos aminoácidos lisina da apolipoproteína B-100 da LDL (LECOMTE et al., 1993; STOCKER e KEANEY, 2004), formando bases de Schiff que aumentam a carga negativa da mesma. Este fato diminui o reconhecimento pelo receptor celular clássico da lipoproteína de baixa densidade. Assim, as formas modificadas da LDL são captadas através de mecanismos de reconhecimento pelo receptor *scavenger* (presente em macrófagos) resultando em um substancial acúmulo de colesterol e subsequente formação de células espumosas nos vasos sanguíneos (CARMENA; DURIEZ; FRUCHART, 2004; GOTTO, 2003).

A modificação oxidativa da LDL pode ser promovida pelos mais diversos oxidantes e mecanismos. Alguns oxidantes podem ser originários de células como os macrófagos, células endoteliais ou musculares lisas. Entretanto outros oxidantes podem ser originários de fontes exógenas como alguns alimentos e cigarro (NIKI, 2004), sugerindo que as modificações da LDL estão diretamente relacionadas ao processo de formação de radicais livres. Desta forma, a peroxidação lipídica tem um papel crucial na patogênese da aterosclerose, existindo relação direta entre os processos de peroxidação e o aumento dos níveis de LDL oxidada (ISMAIL; GAD; HAMDY, 1999).

Reconhecidamente a dieta rica em colesterol (hipercolesterolemia) e ácidos graxos saturados, também é um dos fatores de risco para o desencadeamento das doenças cardiovasculares ateroscleróticas (PRAÇA; THOMAZ; CARAMELLI, 2004). Observa-se relação direta entre as concentrações plasmáticas de colesterol total e de LDL-oxidada com a doença coronária aterosclerótica. Com isso, quanto maior a concentração de colesterol no sangue maior será o acúmulo de LDL, aumentando assim a probabilidade do desenvolvimento de doenças arteriais coronarianas (CATER; HELLER; DENKE, 1997; KENDALL e JENKINS, 2004).

4 ATIVIDADE PROTETORA DOS ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são compostos que previnem a formação ou sequestram os radicais livres e interrompem a cadeia de reações de propagação, pois reagem com os radicais livres nas etapas iniciais da oxidação formando produtos intermediários estáveis (VALENZUELA; NIETO; UAUY, 1993). Essas substâncias que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificadas como antioxidantes enzimáticos (endógenos) ou não-enzimáticos (exógenos) (SIES, 1993).

O organismo conta com espécies diferentes de antioxidantes endógenos que ajudam a eliminar as espécies reativas através de mecanismos fisiológicos de defesa. Estes mecanismos são realizados através de enzimas como a glutathione redutase (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase e glutathione peroxidase (GSH-Px); nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), coenzima Q

(JACOB, 1994); e proteínas ligantes de metais como a albumina, metalotioneína, ceruloplasmina e transferrina (SOARES, 2002).

Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes exógenos é de grande importância, e com isso o consumo regular de frutas e hortaliças e, alguns de seus produtos, torna-se um aliado à prevenção do risco de doenças associadas ao excesso de radicais livres no organismo. O efeito protetor atribuído às frutas deve-se à variedade de constituintes com atividade antioxidante presentes nas mesmas, como vitaminas e numerosos metabólitos secundários, incluindo flavonóides e outros polifenóis (HAVSTEEN, 2002; PIETTA, 2000).

O desempenho dos antioxidantes *in vivo* depende principalmente de fatores como: tipos de radicais livres formados, onde e como são gerados os mesmos e doses ideais para a proteção. Assim, é possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, mas não proteja ou mesmo aumente as lesões induzidas em outros sistemas ou tecidos (HALLIWELL et al., 1995). A vitamina C, por exemplo, atua na fase aquosa como um excelente antioxidante sobre os radicais livres, mas não é capaz de agir nos compartimentos lipofílicos para inibir a peroxidação dos lipídeos. Por outro lado, estudos *in vitro* mostram que essa vitamina na presença de metais de transição, como o ferro, pode atuar como uma molécula pró-oxidante gerando os radicais H_2O_2 e $OH\cdot$ (ODIN, 1997).

Os compostos fenólicos, em especial os flavonóides, sequestram os radicais livres bloqueando as reações radicalares em cadeia através da doação de átomos de hidrogênio, podendo atuar em ambos os compartimentos celulares lipofílico e hidrofílico (DECKER, 1997). Segundo Halliwell et al. (1995), esses compostos de considerável importância na dieta podem inibir o processo de peroxidação lipídica e com isso ajudar na prevenção de doenças oriundas desse tipo de processo.

O potencial antioxidante das antocianinas é regulado por diferenças na sua estrutura química. Variando a posição e os grupamentos químicos nos anéis aromáticos das mesmas, a capacidade de reagir com radicais livres também varia (GALVANO et al., 2004). Seu potencial antioxidante também é dependente do

número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação na estrutura (KUSKOSKI et al., 2004).

As agliconas possuem hidroxilação idêntica nos anéis A e C, compostas com um único grupo OH no anel B (4'-OH) incluindo pelargonidina, malvidina e peonidina e apresentam menor atividade antioxidante comparada com compostos que possuem as posições 3' e 4' substituídas por grupamentos OH, como delphinidina e cianidina 3-glicosídeo. Assim, os flavonóides com um maior número de grupos hidroxila têm maior atividade antioxidante. (KUSKOSKI et al., 2004).

Assim como a eficácia dos flavonóides está relacionada com o grau de hidroxilação, também diminui com a substituição por açúcares, apresentando os glicosídeos menor atividade antioxidante que suas agliconas correspondentes (KUSKOSKI et al., 2004). Um estudo realizado por Galvano et al. (2004) com cianidina-3-glicosilrutinosídeo e cianidina-3-rutinosídeo de cerejas relatou que para ambas a atividade antioxidante foi superior a vitamina E. Entretanto, os resultados desse trabalho sugeriram que a forma de aglicona tem maior eficácia que a forma de glicosídeo. De acordo com esses resultados, o número de resíduos de açúcar na posição C3 da molécula de antocianina pode ser importante para a atividade antioxidante da mesma, que diminui com o aumento do número de unidades de açúcar nesta posição.

5 AÇÃO FUNCIONAL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

A ação antioxidante dos compostos fenólicos em geral e das antocianinas está relacionada, principalmente, com possível efeito protetor contra doenças cardiovasculares (FORMICA e REGELSON, 1995). Sesso et al. (1999) examinaram a relação entre consumo de chá e café com a incidência de infarto do miocárdio em 340 indivíduos com a doença confirmada e em 340 voluntários saudáveis. Os indivíduos que ingeriam mais de uma xícara de chá (237mL) por dia apresentaram um risco 44% menor de desenvolver a doença, enquanto que o consumo de café não foi significativamente associado com a redução no risco cardiovascular.

Morré e Morré (2006) avaliaram o efeito da uva e seu extrato (rico em antocianinas) associado com chá verde descafeinado contendo 92% de polifenóis (80% de catequinas) no crescimento de células de carcinoma cervical humano em estudo experimental. Observaram que a mistura de chá verde com extrato de uva foi significativamente mais eficiente no combate ao crescimento de células cancerígenas em ratos quando comparados com o grupo controle e com o que recebeu apenas a infusão de chá verde.

Vários estudos demonstram que os compostos fenólicos inibem os processos de inflamação vascular que contribuem para o aparecimento de doenças cardiovasculares. Diversos flavonóides atuam inibindo enzimas como ciclooxigenases e lipoxigenases, ligadas a processos inflamatórios (LAJOLO, 2002). Alguns autores estão sugerindo o uso da casca escura do grão de soja (rico em antocianinas: cianidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo e petunidina-3-glicosídeo) como uma substância útil para modular desordens cardiovasculares. Kim et al. (2006) examinaram a inibição da expressão de alguns genes inflamatórios associados com isquemia/reperfusão provocada pela injúria cardiovascular. Antocianinas isoladas da casca escura do grão de soja diminuíram níveis vasculares da molécula de adesão celular-1 (VCAM-1), molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1) e níveis de ciclooxigenase-2, induzidas pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) (KIM et al., 2006).

As antocianinas podem também atuar na apoptose celular e na angiogênese, fato que pode vir a explicar a ação antitumoral *in vitro* apresentada por estas substâncias. Durante o seu desenvolvimento, as células tumorais produzem substâncias que estimulam o desenvolvimento de vasos as quais, por sua vez, servirão para alimentá-las. Substâncias que impedem esses processos, em suas diversas etapas, podem ser portanto muito úteis para controlar a multiplicação da célula tumoral (FINLEY, 2005; LAJOLO, 2002).

Estudo *in vitro* desenvolvido por Zhang; Vareed; Nair (2005) para avaliar o efeito inibitório no crescimento de células cancerígenas de diferentes linhagens, empregou cinco tipos de antocianidinas (formas aglicona de antocianinas – cianidina, delphinidina, pelargonidina, petunidina e malvidina) e quatro antocianinas (cianidina-3-glicose, cianidina-3-galactose, delphinidina-3-galactose e pelargonidina-3-

galactose). Os autores chegaram aos seguintes resultados: na concentração de 200mcg.mL^{-1} a malvidina e a pelargonidina inibiram, em mais de 60%, o crescimento de células cancerígenas do estômago, cólon, pulmão e mama. Em relação às células cancerígenas do sistema nervoso central, a malvidina inibiu seu crescimento em 40,5%, e a pelargonidina em 34%. Nessa mesma concentração, a cianidina, delfinidina e petunidina inibiram o crescimento de células cancerígenas mamárias em 47, 66 e 53%, respectivamente. Ao contrário dos resultados observados para as antocianidinas, as antocianinas não apresentaram atividade anticancerígena (ZHANG; VAREED; NAIR, 2005).

Menciona-se ainda que alguns compostos fenólicos possam ter ação hipocolesterolêmica mediada por redução na absorção de colesterol no intestino e aumento na excreção de ácidos biliares (CRAIG, 1999). Entretanto, esses mecanismos ainda não estão bem elucidados.

6 REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; DA MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.394-400, 2007.

ABIR – Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e bebidas não alcoólicas. Disponível em: <<http://www.abir.org.br>> Acesso em: 24 nov. 2008.

AGAR, I.T.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Effect of CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. **Postharvest Biology and Technology**, v.11, p.47-55, 1997.

AL MEHDI, A.B.; DODIA, C.; JAIN, M.K.; FISHER, A.B. A phospholipase A2 inhibitor decreases generation of thiobarbituric acid reactive substances during lung ischemia-reperfusion. **Biochimica Biophysica Acta**, v.1166, p.56-62, 1993.

ANTUNES, L.E.C.; CHALFUN, N.N.J.; REGINA, M. de A., DUARTE FILHO, J. Blossom and ripening periods of blackberry varieties in Brazil. **Journal American Pomological Society**, v.54, n.4, p.164-168, 2000.

ANTUNES, L.E.C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.151-158, 2002.

ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. de. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.3, p.413-419, 2003.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos**. Teoria e prática. 3. ed., Viçosa: UFV, 2004. 415p.

ARAÚJO, F.A. **Café (*Coffea arabica*, L.) submetido a diferentes condições de torrefação: caracterização química e avaliação da atividade antioxidante e sensorial**. 2007. 157f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BARBER, A.D.; HARRIS, S.R. Oxygen free radicals and oxidants: a review. **American Pharmacy**, v.34, n.9, p.26-35, 1994.

BARBOZA, G.L.G. **Obtenção e caracterização de sucos clarificados de amora-preta (*Rubus spp.*, L.)**. 1999. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal Pelotas, Pelotas.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. de. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. v.3, São Paulo: Editora Atheneu, 1998. 337p.

BASSOLS, M. do C.; MOORE, J.N. **‘Ébano’ primeira cultivar de amoreira-preta sem espinhos lançada no Brasil**. Pelotas: EMBRAPA UEPAE, 16p. 1981.

BENZIE, I.F.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v.47, p.233-261, 1996.

BIANCHI, M. de L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v.91, p.179-194, 2003.

BOBBIO, G.O.; BOBBIO, P.A. **Química do processamento de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Editora Varela, 1992. 238p.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992. 231p.

BRASIL. Decreto número 2314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União** de 19/06/2000.

BRASIL. Instrução Normativa número 12, de 04 de setembro de 2003, publicado no **Diário Oficial da União** de 09/09/2003, seção 1, página 2: aprova o Regulamento Técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical; os padrões de identidade e qualidade dos sucos tropicais de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, mangaba, maracujá e pitanga; e os padrões de identidade e qualidade dos néctares de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pêssego e pitanga.

BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, p.1-39, 1982.

CAMARGO, G.A.; CONSOLI, L.; LELLIS, I.C.S.; MIELI, J.; SASSAKI, E.K. Bebidas naturais de frutas: perspectivas de mercado, componentes funcionais e nutricionais. **Bioengenharia**, v.1, n.2, p.179-205, 2007.

CARMENA, R.; DURIEZ, P.; FRUCHART, J.C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. **Circulation**, v.109, p.SIII-2-7, 2004.

CATER, N.B.; HELLER, H.J.; DENKE, M.A. Comparison of the effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.65, p.41-5, 1997.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G. de; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, v.344, n.8926, p.862-863, 1994.

COLLA, L.M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Congelamento e descongelamento – sua influência sobre os alimentos, **Vetor**, v.13, p.53-56, 2003.

COOPER, J.A.; MULLER, G.J.; HUMPHRIES, S.E. A comparisom of the PROCAM and Framingham point-scoring systems for estimation of individual risk of coronary heart disease in the Second Northwick Park Heart Study. **Atherosclerosis**, v.181, p.93-100, 2005.

CRAIG, W.J. Health-promotion properties of common herbs. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, suppl., p.S491-9, 1999.

DAVIS, A.J.; MAZZA, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, n.5, p.716-720, 1993.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, v.55, n.11, p.396-407, 1997.

ELISIA, I.; HU, C.; POPOVICH, D.G.; KITTS, D.D. Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. **Food Chemistry**, v.101, n.3, p.1052-1058, 2007.

FACCHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; SANTOS, A.M. dos. Amoreira-preta, framboesa e mirtilo: pequenos frutos para o sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais do...** Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. v.3, p.989-990.

FINLEY, J.W. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and selenocompounds. **Annals of Botany**, v.95, n.7, p.1075-1096, 2005.

FONSECA, T.R. **Efeito do exercício físico e do extrato de soja no perfil lipídico, no estresse oxidativo e na aterosclerose em camundongos deficientes no gene para o receptor de LDL**. 2007. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FORMICA, J.V.; REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food and Chemical Toxicology**, v.33, n.12, p.1061-80, 1995.

FRANCIS, F.J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v.28, p.273-314, 1989.

FRANCIS, F.J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, v.45, p.208-213, 2000.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 1 ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 1996. 182p.

GALVANO, F.; LA FAUCI, L.; LAZZARINO, G.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CIAPPELLANO, S.; BATTISTINI, N.C.; TAVAZZI, B.; GALVANO, G. Cyanidins: metabolism and biological properties. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, n.1, p.2-11, 2004.

GARCÍA-ALONSO, M.; PASCUAL-TERESA, S.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J.C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. **Food Chemistry**, v.84, p.13-18, 2004.

GIBNEY, M.J.; MACDONALD, I.A.; ROCHE, H.M. **Nutrição e metabolismo**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 351p.

GILLER, G.; SINGLER, K. Oxidative stress and living cells. **Folia Microbiologica**, v.40, n.2, p.131-152, 1995.

GOTTO, A.M. Antioxidants, statins, and atherosclerosis. **Journal of the American College of Cardiology**, v.41, p.1205-1210, 2003.

GRANADA, G.L.; VENDRUSCOLO, J.L.; TREPTOW, R.O. Caracterização química e sensorial de sucos clarificados de amora-preta (*Rubus spp.L.*). **Revista Brasileira de Agrociência**. v.7, n.2, p.143-147, 2001.

GRUNDY, S.M.; CLEEMAN, J.I.; MERZ, C.N.B.; BREWER, H.B.; CLARK, L.T.; HUNNINGHAKE, D.B.; PASTERNAK, R.C.; SMITH, S.C.; STONE, N.J. Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines. **Circulation**, v.110, p.227-239, 2004.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.57, suppl. 5, p.715S-724S, 1993.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M.A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O.I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.1/2, p.7-20, 1995.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Identificação e caracterização de antocianinas de amora (*Morus*, sp.) por espectrofotometria UV-Visível. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19., 2004, Recife. **Anais do...**, Recife, 2004, n.109, (a).

HASSIMOTTO, N.M.A.; GOMEZ, M.L.P.A.; MOTA, R.V. da; CORDENUNSI, B. R.; LAJOLO, F. M.. Compostos antioxidantes da amora-preta (*Rubus* sp.). In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19., 2004, Recife. **Anais do...**, Recife, 2004, n. 424, (b).

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v.96, p.67-202, 2002.

HORST, M.A.; LAJOLO, F.M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br>> Acesso em: 10 fev. 2009.

HU, F.B.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; ASCHERIO, A.; COLDITZ, G.A.; SPEIZER, F.E.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.6, p.1001-1008, 1999.

IMEN – Instituto de metabolismo e nutrição. Disponível em: <<http://www.nutricaoclinica.com.br>> Acesso em: 20 nov. 2008.

ISMAIL, M.F.; GAD, M.Z.; HAMDY, M.A. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. **Pharmacological Research**, v.39, p.157-166, 1999.

JACKMAN, R.L.; SMITH, J.L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G.A.F.; HOUGHTON, J.D. **Natural food colorants**. New York-USA: AVI, 1992.

JACOB, R.A. Nutrition, health and antioxidants. **Inform**, v.5, p.1271-1275, 1994.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.153-161, 2002.

KENDALL, C.W.C.; JENKINS, D.J.A. A Dietary portfolio: maximal reduction of low-density lipoprotein cholesterol with diet. **Current Atherosclerosis Reports**, v.6, p.492-8, 2004.

KIM, H.J.; TSOY, I.; PARK, J.M.; CHUNG, J.I.; SHIN, S.C.; CHANG, K.C. Anthocyanins from soybean seed coat inhibit the expression of TNF- α -induced genes associated with ischemia/reperfusion in endothelial cell by NF- κ B-dependent pathway and reduce rat myocardial damages incurred by ischemia and reperfusion in vivo. **FEBS Letters**, v.580, n.5, p.1391-1397, 2006.

KING, A.R.D.; YOUNG, G.E. de D. Characteristics and occurrence of phenolics phytochemicals. **Journal of American Dietetic Association**, v.99, n.2, p.213-218, 1999.

KNOWLER, W.C.; BARRETT-CONNOR, E.; FOWLER, S.E. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **New England Journal of Medicine**, v.346, p.393-403, 2002.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; GARCÍA-PARILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p. 691-693, 2004.

LAJOLO, F. **Alimentos funcionais: aspectos científicos e normativos. Dieta e Saúde**. 2002, 8p.

LECOMTE, E.; ARTUR, Y.; CHANCERELLE, Y.; HERBETH, B.; GALTEAU, M.M.; JAENDEL, C. Malondialdehyde adducts to and fragmentation of apo B from human plasma. **Clinica Chimica Acta**, v.218, p.39-46, 1993.

LEITÃO, A.M. **Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de néctar de amora-preta (*Rubus spp.*), Cv. Tupy, embalado em polipropileno, no armazenamento**. 2007. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LEITE, H.P.; SARNI, S.S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.18, n.2, p.87-94, 2003.

LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.37, n.3, 2001.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E. de A.; LIMA, D.E. da S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.447-450, 2002.

LIMA, V.L.A.G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, D.E. da S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas na pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.92-94, 2005.

LOPES, A.S.; MATTIETTO, R. de A.; MENEZES, H.C. de. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p.553-559, 2005.

MÄÄTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN, A.R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* Species (family Rosaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6178-6187, 2004.

MAEDA, R.N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L.K.O.; CHAAR, J.M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.313-316, 2007.

MAGNONI, D.C.C. **Perguntas e respostas em nutrição clínica**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2004, 568p.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. da. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v.24, n.1, p.59-82, 2006.

MANCINI-FILHO, J. Alimentos funcionais nas doenças cardiovasculares. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B. **Alimentos funcionais**. Viçosa: UFV, 202p., 2006.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Los flavonóides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v.17, n.6, p.271-278, 2002.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.1, p.5-18, 2000.

MAY, J.M. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? **The FASEB Journal**, v.13, p.995-1006, 1999.

McMURRY, J. **Química Orgânica**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, vol.1, 6. ed. 2006, 925p.

MORENO-ALVAREZ, M.J.; MATOS, A.V.; LÓPEZ, E.; BELÉN, D. Estabilidad de antocianinas en jugos pasteurizados de mora (*Rubus glaucus* Benth). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.52, n.2, 2002.

MORENO, J.J.; MITJAVILA, M.T. The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (Review). **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.14, n.4, p.182-195, 2003.

MORRÉ, D.M; MORRÉ, D.J. Anticancer activity of grape and grape skin extracts alone and combined with green tea infusions. **Cancer Letters**, v.238, n.2, p.202-209, 2006.

MOTA, R.V. da. Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extrator caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.303-308, 2006.

NEVES FILHO, L. de C. Congelamento de morango. In: Simpósio sobre Cultura do Morangueiro, 1., 1986, Jaboticabal. **Anais do...** Jaboticabal, 1986, p.65-88.

NIKI, E. Antioxidants and atherosclerosis. **Biochemical Society Transactions**, v.32, p.156-159, 2004.

NRC (National Research Council). **Dietary reference intakes: for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, D.C., National Academy Press, 2000, 506p.

ODIN, A.P. Vitamins as antimutagens: advantages and some possible mechanisms of antimutagenic action. **Mutation Research**, v.386, n.1, p.39-67, 1997.

PATEL, R.P.; MCANDREW, J.; SELLAKE, H.; WHITE, C.R.; JO, H.; FREEMAN, B.A.; DARLEY-USMAR, V.M. Biological aspects of reactive nitrogen species. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1411, p.385-400, 1999.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, p.1035-1042, 2000.

POLING, E.B. Blackberries. **Journal of Small Fruit and Viticulture**, v.14, n.1-2, p.38-69. 1996.

PORTER, N.A., CALDWELL, S.E., MILLS, K.A. Mechanism of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, v.30, n.4, p.277-290, 1995.

PRAÇA, J.M.; THOMAZ, A.; CARAMELLI, B. O suco de berinjela (*Solanum melongena*) não modifica os níveis séricos de lípidos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.82, n.3, p.269-72, 2004.

RASEIRA, M. do C.B.; SANTOS, A.M. dos; MADAIL, J.C.M. **Amora preta: cultivo e utilização**. Pelotas: EMBRAPA, CNPFT, (Circular Técnica, 11), 20p. 1984.

RASEIRA, A.; SANTOS, A.M. dos; RASEIRA, M. do C.B. Caingangue, nova cultivar de amoreira-preta para consumo *in natura*. **HortiSul**, v.2, n.3, p.11-12, 1992.

ROMERO, F.J.; BOSCH-MORELL, F.; ROMERO, M.J.; ROMERO, B.; MARIN, N.; ROMA, J. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. **Environmental Health Perspectives**, v.106, p.1229-1234, 1998.

ROOS, R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. In: EPSTEIN, F.H. Mechanisms of Disease. **The New England Journal of Medicine**, v.340, n.2, p.115-126, 1999.

ROSIER, J.P. Novas regiões: vinhos de altitude no sul do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 10., 2003, Bento Gonçalves. **Anais do...**, Bento Gonçalves, 2003, n.137.

ROSS, J.A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.

SANTOS, A.M. dos; RASEIRA, M. do C.B. **Lançamento de cultivares de amoreira-preta**. Pelotas: EMBRAPA – CNPFT, 1988. n.p. (EMBRAPA: Informativo 23).

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2432-2438, 2002.

SESSO, H.D.; GAZIANO, J.M.; BURING, J.E.; HENNEKENS, C.H. Coffee and tea intake and the risk of myocardial infarction. **American Journal of Epidemiology**, v.149, n.2, p.162-167, 1999.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SILVA, M. de F.V. **Efeito dos diferentes tratamentos e embalagens nas características da polpa de acerola e na determinação dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o armazenamento**. 1999. 224f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R.E.; FINN, C.E.; PEREIRA, C.B. Influence of cultivar, maturity and sampling on blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics and antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n. 26, p.8021-8030, 2004.

SJÖDIN, B.; WESTING, Y.H.; APPLE, F.S. Biochemical mechanisms for oxygen free radicals formation during exercise. **Sports Medicine**, v.10, n.4, p.236-254, 1990.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SOUZA FILHO, M.S.; LIMA, J.R.; SOUZA, A.C.R.; SOUZA NETO, M.A.; COSTA, M.C. Efeito do branqueamento, processo osmótico, tratamento térmico, e armazenamento na estabilidade da vitamina C de pedúnculos de caju processados por métodos combinados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.211-213, 1999.

SPITELLER, G. The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: a new theory on atherogenesis. **Molecular Nutrition e Food Research**, v.49, p.999-1013, 2005.

STADLER, Z. **Determinação do teor de vitamina C em alimentos**. 1999. 27f. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Ensino de Química Experimental para o 2º grau, Setor de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

STEINBERG, D. Atherogenesis in perspective: hipercolesterolemia and inflammation as partners in crime. **Nature Medicine**, v.8, n.11, p.1211-1217, 2002.

STOCKER, R.; KEANEY, J.F.Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiological Reviews**, v.84, n.4, p.1381-1478, 2004.

SU, L.; YIN, J.; CHARLES, D.; ZHOU, K.; MOORE, J.; YU, L. Total phenolic contents, chelating capacities and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chemistry**, v.100, p.990-997, 2007.

TACO – **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos** – NEPA/UNICAMP. Versão II, 2º ed. Campinas-SP, 2006. 113p.

TERCI, D.B.L.; ROSSI, A.V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução. **Química Nova**, v.25, n.4, p.684-688, 2002.

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v.189, p.41-54, 2003.

VACA, C.E.; WILHEM, J.; HARMS-RINGDAHL, M. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. **Mutation Research**, v.195, p.137-149, 1988.

VALENZUELA, A.; NIETO, S.; UAUY, R. Desafios tecnológicos para avaliar ácidos graxos ômega-3 poliinsaturados em óleos marinhos de uso alimentício e farmacológico. **Aceites y Graxas**, v.7, 1993.

VANDERLAAN, P.A.; REARDON, C.A.; GETS, G.S. Site specificity of atherosclerosis: site-selective responses to atherosclerotic modulators. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, n.24, p.12-22, 2004.

VENDRAMINI, A.L.; TRUGO, L.C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.15, n.5, p.664-668, 2004.

VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P.C. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.23, n.2, p.141-149, 2008.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic acid in some small berries. **Journal of Agricultural of Food Chemistry**, v.53, p.2118-2124, 2005.

ZHANG, Y.; VAREED, S.K.; NAIR, M.G. Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyanidins, the pigments in fruits and vegetables. **Life Science**, v.76, n.13, p.1465-1472, 2005.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M.T.; TONZAR, A.C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J.G. Produtos de acerola: estudos da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v.23, n.1, p.92-94, 2003.

WHO – World Health Organization. Disponível em: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/. Acesso em: 14 jan. 2009.

WITZTUM, J.L. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. **British Heart Journal**, v.69, p.S12-S18, 1993.

CAPÍTULO II – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE NÉCTAR DE AMORA-PRETA (*Rubus* spp.) DURANTE ARMAZENAMENTO CONGELADO

1 INTRODUÇÃO

Pequenas frutas como a amora-preta (*Rubus* spp.) vêm despertando a atenção dos consumidores em função dos benefícios que podem proporcionar ao organismo, devido principalmente à sua constituição em vitaminas e compostos fenólicos com elevado poder antioxidante.

O fato de a amora ser uma fruta com baixa disponibilidade durante o período de entressafra, apresentar estrutura frágil, elevada taxa respiratória e conseqüentemente baixa durabilidade pós-colheita, limita o seu consumo e comercialização na forma *in natura*. Assim, uma das alternativas viáveis para a utilização desse fruto pode estar na elaboração de néctar, uma bebida nutritiva, pronta para o consumo e de processamento relativamente fácil (ANTUNES; DUARTE FILHO; SOUZA, 2003; NAGY; CHEN; SHSW, 1999). Contudo, a capacidade antioxidante do produto processado pode apresentar-se diferente quando comparada à fruta *in natura* e com isso os possíveis benefícios proporcionados ao organismo podem ter maior ou menor efetividade.

É importante salientar que as substâncias fisiologicamente ativas devem estar presentes nos alimentos funcionais em quantidades suficientes e adequadas para produzir o efeito fisiológico desejado (JAEKEL, 2008). Fatores enzimáticos, químicos, físicos e microbiológicos inerentes à fruta e outros associados às condições de processamento, acondicionamento e armazenamento do produto podem afetar a constituição físico-química do mesmo, vindo a contribuir para alterações na sua funcionalidade (LEITÃO, 2007).

O néctar elaborado neste estudo, comparativamente aos néctares convencionais, além de atender a tendência de novos hábitos do consumidor, pode

apresentar maior retenção de substâncias bioativas, como compostos fenólicos e vitamina C, devido a não utilização de altas temperaturas durante o seu processamento e o emprego de baixas temperaturas (congelamento) como método de conservação em longo prazo.

Trabalhos realizados com polpa de amora-preta evidenciam que o emprego de altas temperaturas na conservação implica na maioria das vezes em redução das substâncias bioativas presentes no produto. Segundo Araújo; Duarte; Rodrigues (2006a) e Araújo; Leitão; Rodrigues (2007) a polpa de amora-preta quando pasteurizada apresenta uma redução de 38% nos teores de vitamina C e de 82% nos teores de compostos fenólicos totais, respectivamente. Essa degradação ocorre em função de que as temperaturas elevadas podem levar à oxidação do ácido ascórbico e no caso dos compostos fenólicos, promovem a hidrólise da ligação glicosídica presente na estrutura das antocianinas fazendo com que as mesmas percam a cor (MALACRIDA e MOTTA, 2006).

Assim, o congelamento como processo único de preservação pode ser um método de conservação adequado para o produto uma vez que as baixas temperaturas empregadas garantem a conservação microbiológica do mesmo por períodos de tempo prolongados e não proporcionam determinadas alterações físico-químicas oriundas de métodos de conservação mais drásticos como a pasteurização (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998).

1.1 Objetivo

Avaliar as características físico-químicas e o potencial antioxidante de néctar de amora-preta durante 90 dias de armazenamento congelado ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, durante o período de dezembro de 2007 a julho de 2008.

2.1 MATERIAL

Frutos de amoreira-preta (*Rubus* spp.), cv. Tupy, safra 2007/2008, cultivados em Morro Redondo (município localizado na latitude de 31°35'18" sul e longitude de 52°37'55" oeste), região sul do estado do Rio Grande do Sul; garrafas de polipropileno randômico (PP), com capacidade para 250mL, fornecidas pela PACKPET Embalagens Ind. e Comércio Ltda – São Paulo; e reagentes químicos necessários para as avaliações físico-químicas.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Preparo da matéria-prima

As frutas foram colhidas pela manhã, manualmente, quando estavam no ponto de maturação considerado ideal, visualizado através do tamanho das mesmas (em torno de 6g) e da coloração escura e uniforme da casca (ANTUNES, 2002). Após foram lavadas em água corrente clorada para remoção das sujidades mais grosseiras, sanitizadas em solução de cloro ativo a 100mg.L⁻¹ por 10 minutos (CHITARRA, 2000) e despulpadas em despulpadeira mecânica com peneira de 0,8mm (LEITÃO, 2007). A polpa foi acondicionada em garrafas de polietileno tereftalato (PET) com capacidade para 5000mL e armazenada sob congelamento (-18±2°C) em freezer horizontal até o processamento do néctar.

2.2.2 Processamento do néctar

O néctar foi preparado pela mistura da polpa de amora-preta com água mineral (SARANDI – Barra Funda/RS) na proporção de 1:1(p/p), adicionado de sacarose (açúcar cristal) até 13ºBrix, conforme Leitão (2007), sendo acondicionado em garrafas de polipropileno (PP) randômico com capacidade para 250mL e armazenado sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) em freezer vertical durante 90 dias (Fig. 2.1).

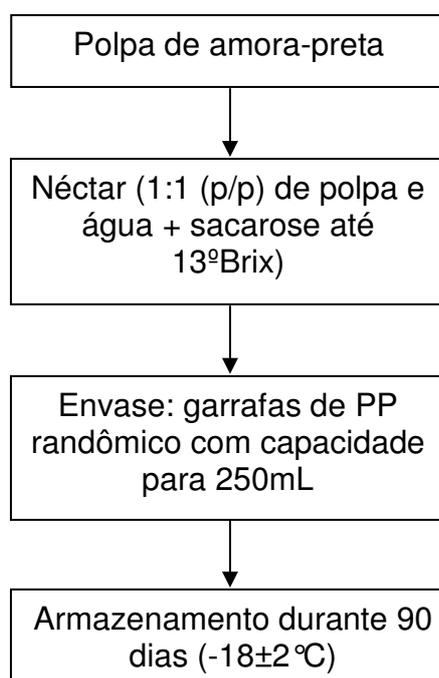


Figura 2.1 – Fluxograma de processamento de néctar de amora-preta.

2.2.3 Avaliações

2.2.3.1 Avaliações na polpa de amora-preta (*Rubus spp.*)

A polpa foi avaliada, em triplicata, quanto a sua composição físico-química e potencial antioxidante.

2.2.3.1.1 Umidade

Determinada por método gravimétrico de secagem em estufa à 105°C até peso constante, sendo os resultados expressos em % de umidade (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.2 Proteínas

Através do método de Kjeldahl, sendo os resultados expressos em % de proteína (INST. ADOLFO LUTZ, 1985). O fator de conversão protéico utilizado foi de 6,25 (para produtos de frutas).

2.2.3.1.3 Cinzas

Determinada por método gravimétrico, sendo os resultados expressos em % de cinzas (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.4 Fibra bruta

Determinada por método gravimétrico, sendo os resultados expressos em % de fibra bruta (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.5 Extrato etéreo

Através de método gravimétrico de extração por solvente (Extrator de Soxhlet), sendo os resultados expressos em % de extrato etéreo (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.6 Carboidratos

Determinado através do cálculo de diferença centesimal dos constituintes da amostra, ou seja, $100 - (\% \text{umidade} + \% \text{proteína} + \% \text{extrato etéreo} + \% \text{fibra bruta} + \% \text{cinzas})$, sendo os resultados expressos em % de carboidratos (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.7 Sólidos solúveis totais

Determinado por leitura direta em refratômetro de bancada, marca Analytikjena, sendo os resultados corrigidos para a temperatura de 20°C, através de tabela de correção, e expressos em °Brix.

2.2.3.1.8 Açúcares totais

Método volumétrico (Lane-Eynon), através de titulação com solução de Fehling, sendo os resultados expressos em % de glicose (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.9 Açúcares redutores

Método volumétrico (Lane-Eynon), através de titulação com solução de Fehling, sendo os resultados expressos em % de glicose (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.10 Açúcares não-redutores

Determinado por diferença entre o teor de açúcares totais e não redutores, sendo o resultado expresso em % de sacarose (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.11 Pectina

Método gravimétrico, sendo os resultados expressos em % de pectato de cálcio (INST. ADOLFO LUTZ, 1985).

2.2.3.1.12 pH

Determinado em potenciômetro Digimed – DM-20, sendo a temperatura a amostra de 20°C.

2.2.3.1.13 Acidez total

Método volumétrico, através de titulação com NaOH 0,1N, sendo os resultados expressos em % de ácido cítrico (INST. ADOLFO LUTZ, 1985). Embora o ácido de maior predominância presente na amora-preta seja o ácido málico, os resultados de acidez total foram expressos em % de ácido cítrico considerando que a maioria dos trabalhos referentes ao assunto apresenta os resultados expressos neste ácido.

2.2.3.1.14 Viscosidade aparente

Determinada em aparelho *Haake Viscosimeter*, nas condições de temperatura da amostra de 20°C, velocidade de 100rpm, tempo de 30 segundos e *spindle* L1, sendo os resultados expressos em miliPascal (mPas) (MACHADO, 2007).

2.2.3.1.15 Compostos fenólicos totais

O conteúdo total de compostos fenólicos foi determinado usando uma adaptação do método de Folin-Ciocalteu de acordo com Kiralp e Toppare (2006).

Uma alíquota de um 0,1mL da amostra foi adicionada a 7,9mL de água deionizada, 0,5mL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1,5mL de solução de carbonato de sódio a 20%. A absorvância da amostra foi medida a 765nm em espectrofotômetro Analytikjena AG modelo Spekol 1300, após incubação de duas horas a temperatura ambiente. A quantificação dos compostos foi baseada na estruturação de uma curva padrão de ácido gálico com $R^2 = 0,9986$ e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico.100g⁻¹ de polpa de amora.

2.2.3.1.16 Antocianinas totais

As antocianinas totais foram determinadas conforme Fuleki e Francis (1968) com algumas adaptações. Utilizou-se um (1) grama de amostra em 25mL de solução extratora etanol pH 1,0 incubando por uma hora a temperatura ambiente. Após efetuou-se a leitura em espectrofotômetro Analytikjena AG modelo Spekol 1300, em comprimento de onda de 520nm. A quantificação de antocianinas totais baseou-se no coeficiente de extinção molecular da cianidina-3-glicosídeo (98,2), a qual representa a principal antocianina presente em frutos de amoreira-preta, perfazendo cerca de 66-80% do total de antocianinas (MOTA, 2006). O cálculo da concentração de antocianinas foi baseado na lei de Beer (Eq. 1) e os resultados foram expressos em miligramas de cianidina 3-glicosídeo por 100 gramas de polpa.

$$A = \epsilon \cdot C \cdot l$$

Onde: A= absorvância

ϵ = Coeficiente de absorção molar

C= concentração mol/L

l = caminho óptico em cm

Equação 2.1 - Equação da lei de Beer.

2.2.3.1.17 Ácido L-ascórbico

Os teores de ácido L-ascórbico foram determinados através do método de redução dos íons cúpricos, de acordo com Contreras; Strongii; Guernelli (1984), utilizando curva padrão com equação da reta $y = 0,0636x - 0,0128$ e $R^2 = 0,9809$. A leitura das absorvâncias foi realizada em espectrofotômetro Analytikjena AG modelo

Spekol 1300, em comprimento de onda de 545nm. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido L-ascórbico.100g⁻¹ de polpa de amora.

Cabe ressaltar que os resultados de ácido L-ascórbico não quantificam o composto isoladamente e sim englobam um conjunto de compostos com ação de vitamina C (além do ácido L-ascórbico também o ácido eritórbico e D-isoascórbico).

2.2.3.1.18 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH[·] (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), segundo o método citado por Miliauskas; Venskutonis; Van Beek (2004). A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro Analytikjena AG modelo Spekol 1300, em comprimento de onda de 515nm, sendo os resultados expressos em percentual de sequestro de radicais livres (%SRL), calculado em relação ao decréscimo da absorbância das amostras correlacionado ao decréscimo da absorbância do controle (solução de DPPH), conforme a Eq. 2.2.

$$\% \text{ inibição (\%SRL)} = [(Ab-Aa)/Ab] \times 100$$

Onde: Aa: absorção da amostra aos 40 minutos de incubação.

Ab: absorção da solução de DPPH aos zero minutos de incubação (branco).

Equação 2.2 - Capacidade sequestrante (%SRL) do radical DPPH.

O tempo de incubação de 40 minutos foi estabelecido com base em testes prévios realizados na amostra, com leitura da absorbância em intervalos de 10 minutos até a estabilização.

2.2.3.2 Avaliações no néctar de amora-preta

As avaliações no produto foram realizadas a cada 15 dias durante 90 dias de armazenamento. Foram determinados, em triplicata, sólidos solúveis totais, pH, acidez total, viscosidade aparente, compostos fenólicos totais, antocianinas totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante, conforme descrição apresentada nos subitens do item 2.2.3.1.

2.2.3.3 Avaliações estatísticas

Os resultados das avaliações foram analisados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA), teste F e teste de Tukey com nível de significância de 5% para comparação das médias, através do programa STATISTICA versão 6.0 (STATISTICA, 2001). Foram realizadas também estimativas de correlações de Pearson para as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Polpa de amora-preta (*Rubus* spp.)

3.1.1 Composição físico-química

Os resultados da composição físico-química de polpa de amora-preta, cv. Tupy, safra 2007/2008 encontram-se descritos na tab. 2.1.

Tabela 2.1 – Composição físico-química de polpa de amora-preta (*Rubus* spp.) cv. Tupy

Determinações	Valores médios (base úmida)
Umidade (%)	91,38 ± 0,01
Proteínas (%)	0,51 ± 0,02
Cinzas (%)	0,26 ± 0,02
Fibra bruta (%)	0,32 ± 0,005
Extrato etéreo (%)	0,05 ± 0,006
Outros carboidratos **	0,45±0,00
Sólidos solúveis totais (°Brix)	8,50 ± 0,00
Açúcares redutores (% glicose)	6,86 ± 0,09
Açúcares não-redutores (% sacarose)	0,17 ± 0,09
Açúcares totais (% glicose)	7,03 ± 0,00
Pectina (% pectato de cálcio)	0,06 ± 0,001
pH	2,74 ± 0,00
Acidez total (% ácido cítrico)	0,83 ± 0,03
Viscosidade aparente (mPas)	31,66 ± 0,11

* Os valores representam as médias de 3 repetições ± desvio padrão;

** Outros carboidratos = 100 – (umidade + proteínas + cinzas + fibra bruta + extrato etéreo + açúcares totais).

A polpa apresentou elevado teor de umidade, característica comum aos frutos da amoreira-preta e que dificulta a conservação dos mesmos no estado *in natura*, sendo esse o motivo pelo qual grande parte é destinada à elaboração de produtos industrializados (RASEIRA e ANTUNES, 2004). Segundo Antunes; Duarte Filho; Souza (2003), devido ao elevado teor de umidade e alta taxa respiratória, a recomendação usual de armazenamento refrigerado dos frutos é de dois a três dias quando mantidos a 0°C. Entretanto, de acordo com Veazie (2002), a fruta apresenta maior durabilidade (sete dias) quando armazenada sob condições controladas de temperatura (2°C) e umidade relativa (90-95%).

Os demais parâmetros avaliados (proteínas, cinzas, fibra bruta, extrato etéreo e carboidratos) apresentaram-se menores quando comparados àqueles relatados por Chim (2008) para polpa de amora-preta cv. Tupy, safra 2005/2006, principalmente em função de que no trabalho deste autor as frutas foram trituradas na forma íntegra, sem que a polpa fosse separada da casca e da semente, fator suficiente para que principalmente os parâmetros fibra bruta e cinzas fossem mais expressivos quando comparados aos teores encontrados na polpa 2007/2008 onde, devido à operação de despulpamento, a casca e as sementes foram totalmente removidas. Além disso, o maior percentual de água (91,38%) presente na polpa 2007/2008 também pode ter influenciado para que a mesma apresentasse menores percentuais de seus constituintes em relação à polpa de Chim (2008) que continha em torno de 88% de umidade.

Resultados apresentados por Araújo; Duarte; Rodrigues (2006b), em relação a alguns parâmetros da composição centesimal de polpa de amora-preta (safra 2004/2005), mostram-se também superiores aos evidenciados na polpa 2007/2008. Os autores relataram teores de proteínas e fibra bruta em torno de 12,32 e 37,84% (em base seca) respectivamente, extremamente maiores quando comparados aos evidenciados para a polpa originária de frutas da safra 2007/2008 (5,92% de proteínas e 3,71% de fibra bruta, em base seca).

De acordo com Raseira e Antunes (2004) os frutos da amoreira-preta, assim como as demais frutas cuja película é consumida conjuntamente, apresentam bons teores de fibra bruta (em torno 2%) o que sugere benefícios relacionados à sua ingestão como uma possível regulação do trato intestinal.

A fruta, segundo Antunes (2002), apresenta baixas quantidades de proteína e gordura (em torno de 0,8 e 0,15% respectivamente, em base úmida), seguindo o mesmo padrão de outras frutas regionais, como morango, mirtilo e framboesa.

Os valores de sólidos solúveis totais (SST), pH e acidez total mostraram-se diferentes dos encontrados por Mota (2006) em polpa de amora-preta, cv. Tupy, safra 2003/2004 oriunda de frutos cultivados em Caldas (MG), visto que os frutos dessa safra apresentaram maior pH e acidez com conseqüente menor percentual de SST. A polpa estudada por Chim (2008) apresentou mesmo valor de SST, menor

teor de açúcares totais e redutores e maior valor de açúcares não-redutores e pH quando comparada à polpa da safra 2007/2008. As mesmas variações foram observadas em relação à polpa, cv. Cherokee, avaliada por Nachtigall et al. (2004), principalmente quanto aos teores de pH, acidez e SST.

Os resultados mostram que a composição dos frutos de amoreira-preta pode variar conforme as características edafo-climáticas do local e ano de produção, tipo de cultivar, bem como com o ponto de maturação no momento da colheita, condições de estocagem pós-colheita e tipo de processamento a que é submetido o fruto, influenciando diretamente nas diferentes características encontradas entre as polpas.

Avaliando o conteúdo total de açúcares presentes na polpa 2007/2008 verifica-se quase que total predominância (97,58%) de açúcares redutores (glicose e frutose). Os resultados concordam com os relatos de Määttä-Riihinen; Kamal-eldin; Törrönen (2004), os quais mencionam que, em média, 97% do total de açúcares presentes em amora-preta são constituídos por açúcares redutores.

O teor de pectina encontrado mostrou-se menor quando comparado ao apresentado por Duarte; Araújo; Rodrigues (2006) em polpa de amora cv. Tupy (0,1%). A diferença pode ser explicada em função das safras das frutas serem diferentes e da ausência de casca na polpa 2007/2008. Durante o processo de despulpamento, casca e sementes são separadas da polpa, o que não ocorreu durante o processamento da polpa avaliada por Duarte; Araújo; Rodrigues (2006), onde os frutos foram apenas triturados em liquidificador e a polpa analisada com casca e semente.

Quanto à viscosidade aparente da polpa de amora, ao comparar o resultado obtido com outras polpas de fruta verifica-se influência direta do teor de sólidos solúveis totais (SST) e da pectina nos valores de viscosidade. A polpa de amora apresentou viscosidade aparente maior que a polpa de goiaba estudada por Ferreira et al. (2002) (22,5mPas) provavelmente em função do maior teor de SST presente (8,5ºBrix) quando comparada à polpa de goiaba (4,8ºBrix). Pelegrini; Vidal; Gasparetto (2000) ao analisar polpa de manga e abacaxi verificaram maior teor de sólidos solúveis (16,6ºBrix) e pectina (0,98% pectato de cálcio) na polpa de manga e

consequentemente maior viscosidade aparente na mesma (440mPas) em relação à polpa de abacaxi (13,3^oBrix; 0,08% pectato de cálcio; 230mPas de viscosidade aparente). A polpa de amora apresentou menor viscosidade aparente que a polpa de umbu-cajá (579mPas) avaliada por Torres; Queiroz; Figueiredo (2003), a qual apresenta também maior teor de SST (13^oBrix) e de pectina (0,5098% pectato de cálcio).

3.1.2 Potencial antioxidante

Os resultados da determinação do potencial antioxidante de polpa de amora-preta encontram-se descritos na tab. 2.2.

Tabela 2.2 – Potencial antioxidante de polpa de amora-preta (*Rubus* spp.) cv. Tupy

Determinações	Valores médios
Compostos fenólicos totais (mg GAE.100g ⁻¹ de polpa)	265,42± 0,00
Antocianinas totais (mg GYD-3-G.100g ⁻¹ de polpa)	186,44± 0,00
Ácido ascórbico (mg ácido ascórbico.100g ⁻¹ de polpa)	17,085± 0,095
Atividade antioxidante (% inibição DPPH)	79,28± 0,00

* Os valores representam as médias de 3 repetições ± desvio padrão;

** GYD-3-G: cianidina-3-glicosídeo; GAE – ácido gálico equivalente.

O total de compostos fenólicos foi menor que o encontrado por Chim (2008) em polpa de amora-preta cultivar Tupy (569,89mg GAE.100g⁻¹) e por Antunes et al. (2006) para as cultivares Brazos e Comanche (em torno de 400mg.100g⁻¹). De acordo com Moyer et al. (2002) o conteúdo de compostos fenólicos em um vegetal está diretamente associado à similaridade genética entre as espécies e às condições a que a planta é submetida uma vez que a síntese desses compostos está relacionada, em especial, aos fatores de metabolismo e proteção da planta.

O conteúdo de antocianinas totais foi superior ao evidenciado por Hassimoto et al. (2004) em polpa de amora-preta do cultivar Tupy (116,76mg.100g⁻¹). O mesmo ocorreu em relação aos resultados encontrados por Chim (2008) e Mota (2006) para a polpa do mesmo cultivar (137,59 e 116,76mg.100g⁻¹, respectivamente). De acordo com Wang (2000), do grupo das pequenas frutas que abrange as culturas de morango, framboesa, mirtilo e amora-preta, o mirtilo é classificado como a fruta mais rica em antocianinas, com teores que variam de 93 a 280mg.100g⁻¹ de peso fresco,

seguido pela framboesa (até $197,2\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), amora-preta ($171,6\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e morango ($40\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$).

Neste estudo o teor de antocianinas presente, expresso em miligramas de cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de polpa, correspondeu a 70% do total de compostos fenólicos presentes na amostra. O resultado confirma o observado por Hassimotto et al. (2004) os quais, ao identificar os compostos fenólicos de cinco cultivares de amora-preta, verificaram em todos os casos que a cianidina foi o pigmento predominante contribuindo com aproximadamente 66-80% do total de antocianinas.

A polpa avaliada nesse estudo (tab. 2.2) apresentou teor de ácido ascórbico mais baixo que o normalmente relatado na literatura para amora-preta (cerca de $20\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) (AGAR; STREIF; BANGERTH, 1997; BARBOZA, 1999).

O teste do DPPH realizado para verificar a atividade antioxidante indicou alto poder antioxidante da polpa de amora-preta, apresentando 79,28% de capacidade em capturar radicais livres. O resultado encontrado foi menor que o verificado por Chim (2008) para polpa de amora-preta cultivar Tupy (87,73%). Kuskoski et al. (2005) verificaram resultado semelhante ao deste estudo para a capacidade antioxidante de frutos de amoreira-preta, relatando um percentual de inibição de 82,6%. Em comparação a estudos realizados com outras frutas, a polpa de amora avaliada nesse trabalho apresentou menor capacidade antioxidante que polpa de goiaba (88,96% de sequestro do radical DPPH), acerola (96,14%) e caju (94,33%) (MELO et al., 2008).

A ação antioxidante das substâncias bioativas depende principalmente da sua estrutura química e da concentração das mesmas no alimento. Por sua vez, o teor dessas substâncias em frutas é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da mesma, entre outros. Constata-se ainda que a determinação da atividade antioxidante é influenciada pelo solvente e pela técnica de extração empregada (FRANKEL, 1993; MADSEN e BERTELSEN, 1995). Segundo Economou; Oreopoulou; Thomopoulos (1991) no que concerne aos solventes orgânicos, o metanol, por conseguir extrair elevada quantidade de compostos bioativos, tem sido apontado como o mais efetivo.

3.2 Néctar de amora-preta

3.2.1 Características físico-químicas do néctar durante o armazenamento congelado

O produto elaborado a partir do processamento de frutos da amoreira-preta pode ser visualizado na Fig. 2.2.



Figura 2.2 – Néctar de amora-preta elaborado a partir da mistura de polpa de amora-preta com água mineral na proporção 1:1 (p/p.) e adicionando de sacarose até 13°Brix.

Os resultados das avaliações físico-químicas realizadas em néctar de amora-preta, durante 90 dias de armazenamento congelado, encontram-se descritos a seguir (tab. 2.3):

Tabela 2.3 - Características físico-químicas de néctar de amora-preta cv. Tupy sob armazenamento congelado ($-18\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Armazenamento (dias)	Sólidos solúveis totais ($^{\circ}\text{Brix}$)	pH	Acidez total (% ácido cítrico)	Viscosidade aparente (mPas)
0	13,0 \pm 0,00 ^a	2,41 \pm 0,01 ^c	0,54 \pm 0,00 ^b	34,76 \pm 0,75 ^d
15	14,5 \pm 0,00 ^a	2,50 \pm 0,00 ^a	0,51 \pm 0,02 ^{bc}	35,03 \pm 0,06 ^d
30	14,0 \pm 0,00 ^a	2,37 \pm 0,01 ^d	0,60 \pm 0,03 ^a	35,00 \pm 0,00 ^d
45	14,5 \pm 0,00 ^a	2,27 \pm 0,01 ^g	0,53 \pm 0,02 ^b	29,63 \pm 0,72 ^e
60	14,0 \pm 0,00 ^a	2,46 \pm 0,01 ^b	0,52 \pm 0,02 ^{bc}	41,40 \pm 0,10 ^b
75	14,0 \pm 0,00 ^a	2,33 \pm 0,00 ^f	0,47 \pm 0,00 ^c	45,05 \pm 0,05 ^a
90	14,0 \pm 0,00 ^a	2,35 \pm 0,00 ^e	0,52 \pm 0,01 ^b	36,46 \pm 0,35 ^c

* Os valores representam as médias de 3 repetições \pm desvio padrão;

** Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

O néctar não apresentou variação significativa quanto ao teor de sólidos solúveis totais (SST) ao longo de 90 dias, mantendo-se praticamente constante.

Mota (2006) observou diferença significativa ($p \leq 0,05$) no teor de SST em suco de amora-preta armazenado durante 120 dias, tanto a temperatura ambiente como sob refrigeração. Entretanto, Lavinias et al. (2006) verificaram que o teor de SST em suco de caju permaneceu estável durante 120 dias quando o produto foi submetido a armazenamento congelado a $-22 \pm 1^\circ\text{C}$.

O produto apresentou alteração significativa ($p \leq 0,05$) de pH em todo período de avaliação, com ligeira e alternada diminuição e elevação, entretanto como a variação foi extremamente pequena, pode-se dizer que o produto manteve-se bastante estável frente a possíveis alterações, entre elas enzimática e microbiológica. O mesmo comportamento não foi evidenciado por Leitão (2007) em seu trabalho com néctar de amora-preta, onde verificou aumento progressivo do pH tanto no produto armazenado a temperatura ambiente como naquele armazenado sob refrigeração. Lavinias et al. (2006), ao trabalhar com suco de caju, consideraram estável o pH do produto congelado durante 120 dias, mesmo evidenciando variações em torno de 4,26 a 4,35. Neste mesmo trabalho pode-se verificar a eficiência do congelamento como método de conservação, uma vez que o mesmo suco de caju armazenado sob congelamento foi também armazenado sob temperatura ambiente, sendo nesta última verificada uma maior alteração do pH, de 4,27 para 4,40.

Uma leve diminuição de acidez foi evidenciada no néctar ao longo do tempo, mostrando diferença estatística ($p \leq 0,05$) aos 30 e 75 dias de armazenamento, onde foram observados os maiores e os menores índices, respectivamente. O mesmo resultado foi encontrado por Mota (2006) para suco de amora em ambas as temperaturas de armazenamento estudadas pelo autor (ambiente e refrigeração). Pedrão et al. (1999) não encontraram diferença de acidez entre amostras de suco de limão Tahiti armazenadas sob congelamento a -18°C durante 60 dias. Segundo os autores, o congelamento pode ser adequado para armazenar sucos e polpas de frutas por proporcionar reduzido risco de crescimento de microrganismos. Geralmente o processo de decomposição de um alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera a concentração dos íons de hidrogênio e, por consequência, sua acidez (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985). Com isso, a relação temperatura *versus* decomposição são fatores essenciais no aumento da acidez de

produtos oriundos de frutas. Leitão (2007) observou esta relação quando verificou aumento da acidez em torno de 8,6% para néctar de amora armazenado a temperatura ambiente ($16\pm 3^\circ\text{C}$), e diminuição da acidez para o mesmo produto quando submetido à refrigeração ($4\pm 2^\circ\text{C}$).

Variações significativas ($p\leq 0,05$) de viscosidade aparente no néctar de amora foram evidenciadas a partir dos 45 dias de armazenamento, com diminuição da mesma e progressivo aumento posteriormente. As taxas de viscosidade aparente encontradas no néctar foram similares à viscosidade da polpa originária do produto provavelmente em função da não realização de um processo de filtração durante o preparo do mesmo. A mesma relação pode ser evidenciada em suco de acerola não clarificado, onde a viscosidade aparente do mesmo apresentou-se na faixa de 66,2mPas (20°C) próxima à viscosidade aparente da polpa 74,3mPas (20°C) (DA SILVA; GUIMARÃES; GASPARETTO, 2005).

Pelegrini et al. (2000) relatam que o comportamento reológico dos sucos e néctares é influenciado pela sua composição tanto quantitativa quanto qualitativa e, por consequência, depende do tipo de fruta e dos tratamentos realizados durante seu processo de elaboração. Tanglertpaibul e Rao (1987) reportaram que o comportamento reológico de sucos e polpas de frutas está ligado aos teores de sólidos solúveis em suspensão em função da forma, tamanho, concentrações das partículas suspensas e da estrutura do sistema. As referências que tratam da reologia de derivados de frutas estabelecem que a temperatura, a concentração de sólidos solúveis, o teor de pectina e de sólidos insolúveis são os principais responsáveis pelo comportamento reológico desses produtos (QUEIROZ, 1998).

3.2.2 Potencial antioxidante do néctar durante o armazenamento congelado

Os resultados das avaliações realizadas em néctar de amora-preta, durante 90 dias de armazenamento congelado, para verificar o potencial antioxidante do produto, encontram-se descritos na tabela abaixo:

Tabela 2.4 – Potencial antioxidante de néctar de amora-preta sob armazenamento congelado ($-18\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Armazenamento (dias)	Compostos fenólicos totais (mg ácido gálico.100g ⁻¹ néctar)	Antocianinas totais (mg cianidina 3-glicosídeo.100g ⁻¹ néctar)	Ácido ascórbico (mg ácido ascórbico.100g ⁻¹ néctar)	Atividade antioxidante (%SRL)
0	191,19±0,00 ^a	118,95±0,06 ^a	10,78±0,26 ^a	75,89±0,02 ^a
15	170,00±0,00 ^d	116,49±0,05 ^c	10,26±0,06 ^b	72,36±0,05 ^b
30	153,84±0,00 ^e	117,54±0,24 ^b	9,69±0,02 ^c	70,04±0,06 ^e
45	168,50±1,54 ^d	115,33±0,13 ^d	9,01±0,07 ^d	70,46±0,05 ^d
60	183,59±2,31 ^b	118,16±0,22 ^b	9,95±0,06 ^{bc}	72,13±0,05 ^c
75	168,04±1,08 ^d	110,84±0,14 ^e	6,67±0,12 ^f	69,35±0,13 ^f
90	173,45±0,00 ^c	115,48±0,54 ^d	7,66±0,06 ^e	70,12±0,05 ^e

* Os valores representam as médias de 3 repetições ± desvio padrão;

** Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

No tempo zero, o néctar mostrou potencial antioxidante menor que o mostrado na polpa que originou o produto, com teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e antocianinas totais em torno de 37, 28 e 36% menores, respectivamente, conforme a Fig. 2.3. Mota (2006) ao avaliar antocianinas em suco de amora-preta, logo após seu processamento, também verificou redução no teor desses compostos em relação à polpa. Segundo o autor, a redução também tenha ocorrido devido ao acréscimo de água sofrido pelo produto durante a sua elaboração.

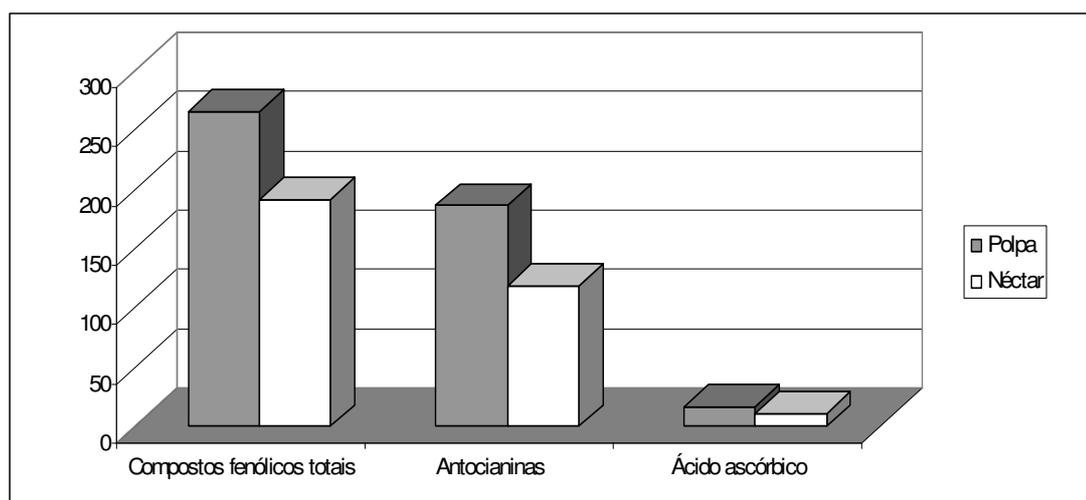


Figura 2.3 – Relação de compostos fenólicos, antocianinas totais e ácido ascórbico entre polpa e néctar de amora-preta.

Em um estudo realizado por Maeda et al. (2007) com néctar de camu-camu, os autores verificaram uma redução de 85,3 e 74,85% nos índices de ácido ascórbico e antocianinas, respectivamente, do produto em relação à polpa de camu-camu inicial.

Baseado nas comparações feitas entre os diferentes experimentos citados, pode-se dizer que as diferenças observadas entre o potencial antioxidante da polpa e o néctar de amora-preta estão relacionadas ao acréscimo de água à polpa para a elaboração do néctar (50% de polpa e água).

Durante o armazenamento o néctar apresentou um decréscimo de compostos fenólicos totais apenas nos primeiros 30 dias, mostrando posterior elevação a partir do quadragésimo quinto dia. As variações de compostos fenólicos foram significativas ($p \leq 0,05$) aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento. Antunes; Gonçalves; Trevisan (2006) trabalhando com frutos de amora-preta armazenados sob refrigeração (2°C) observaram incremento de compostos fenólicos totais até o nono dia de armazenamento seguido de ligeira degradação até o final do experimento (12 dias). Leitão (2007) verificou um acréscimo no teor de fenóis totais de aproximadamente 18,86% no néctar de amora armazenado sob refrigeração ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) ao final do experimento (90 dias). Segundo Sellappan; Akoh; Krewer (2002), este comportamento pode ser decorrente de reações de copigmentação ocorridas durante o armazenamento e ao mesmo tempo, de acordo com Menezes (1994), a redução destes compostos pode ser devida a processos de complexação e polimerização de taninos. Entretanto, apesar das alterações evidenciadas indicarem que o produto tenha sofrido alteração quanto ao teor de compostos fenólicos, é mais provável que as reações de copigmentação e complexação afetem a detecção desses compostos e não o seu conteúdo na amostra.

As diferenças entre os teores de antocianinas não foram muito amplas, sendo significativas ($p \leq 0,05$) aos 15 e 75 dias de armazenamento, mostrando ser o congelamento uma possível opção para minimizar a degradação deste constituinte. Maeda et al. (2007) observaram uma relação contrária para a variação de antocianinas em néctar de camu-camu armazenado tanto sob refrigeração como a temperatura ambiente. Segundo os autores, no camu-camu os pigmentos antocianínicos tendem a serem degradados com o tempo de armazenamento, mesmo

sob temperatura de refrigeração. A mesma tendência quanto à degradação das antocianinas constataram Silva (1999) e Oliva (1995) para néctar e polpa de acerola. Entretanto, Leitão (2007) evidenciou praticamente não haver degradação de antocianinas em néctar de amora-preta armazenado sob refrigeração ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 90 dias, tendo observado também tendência ao aumento desses pigmentos até o sexagésimo dia de armazenamento.

De acordo com Gava (1984), o processo de congelamento de alimentos é capaz de retardar praticamente todo o processo metabólico dos mesmos e, quanto mais baixa for a temperatura de armazenamento, mais lenta será a atividade enzimática e a velocidade das reações químicas por parte do alimento, até determinado momento em que possa ocorrer uma total inibição. Com isso, podemos explicar os baixos índices de degradação dos compostos antociânicos quando o néctar de amora-preta foi submetido a armazenamento congelado.

Os teores de ácido ascórbico no produto variaram significativamente ($p\leq 0,05$) aos 30, 45, 75 e 90 dias, sendo que os níveis do mesmo mantiveram-se bem próximos até os primeiros 60 dias de experimento. As maiores perdas de ácido ascórbico ocorreram no mesmo período (75 dias de armazenamento) em que foram evidenciadas as maiores perdas de antocianinas. De acordo com Bobbio e Bobbio (1992), as antocianinas interagem com o ácido ascórbico produzindo polímeros de produtos de degradação que diminuem sua estabilidade. Segundo Jurd (1972), há uma reação de condensação entre o ácido ascórbico e as antocianinas, e nesta relação, quanto maior a concentração de antocianinas no sistema, maior é a taxa de degradação do ácido ascórbico.

Quinteros (1995), avaliando a estabilidade de néctar de acerola-cenoura, verificou perdas de vitamina C mais aceleradas nos primeiros 90 dias de armazenamento, tendo após este período a taxa de degradação diminuída. Yamashita et al. (2003) observaram perdas de até 43% de vitamina C em frutos de acerola armazenados a -12°C , e de 19% nos armazenados a -18°C , durante 120 dias de estocagem. Leitão (2007) verificou que a degradação desta vitamina em néctar de amora-preta foi de 82,32% no produto armazenado a temperatura de refrigeração ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) e de 100% naquele a temperatura ambiente, contribuindo para a afirmação de que em sucos quanto menor a temperatura de armazenamento,

menor será a intensidade com que serão degradados os compostos funcionais dos mesmos.

A redução do teor de ácido ascórbico em sucos pode ser de natureza oxidativa e pode alterar sensivelmente as características nutricionais do produto. Estas alterações dependem das condições de processamento utilizadas, do tipo de embalagem, da presença de O₂, da relação tempo/temperatura de estocagem, além da incidência de luz (CORREA-NETO e FARIA, 1999).

A atividade antioxidante do produto foi diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$) em praticamente todos os intervalos estudados, exceto aos 30 e 90 dias. O potencial antioxidante decresceu até 45 dias de armazenamento, aumentando aos 60 dias e voltando a decrescer após esse período até o final do experimento. Leitão (2007) verificou tendência ao crescimento do potencial antioxidante em néctar de amora-preta, de aproximadamente 9%, em ambas as condições em que o produto foi estudado. Neste trabalho os decréscimos da atividade antioxidante estão diretamente associados aos decréscimos de compostos fenólicos totais e antocianinas, comprovando serem esses compostos os principais responsáveis pelo potencial antioxidante do néctar de amora.

Comparando o néctar elaborado neste trabalho com outros produtos processados a partir de amora-preta podemos verificar principalmente a influência do tipo de processamento e armazenamento nos níveis de degradação das substâncias bioativas presentes nesses produtos. De acordo com Chim (2008) após o processamento de geléia convencional a partir de amora-preta cv. Tupy, foi observada uma redução de 77% (base úmida) no total de antocianinas (2 vezes mais que no néctar) e de 19% na atividade antioxidante (4 vezes mais que no néctar). A baixa taxa de degradação das substâncias bioativas no néctar de amora deve-se principalmente em função da não utilização de elevadas temperaturas (aquecimento) durante o processamento do mesmo, por ser o calor um dos principais fatores destrutivos dos compostos fenólicos e antociânicos. Comparando os dois produtos (geléia convencional e néctar de amora), agora quanto ao armazenamento, também foi possível verificar menor teor de antocianinas e atividade antioxidante na geléia. A geléia convencional, ao contrário do néctar, foi

armazenada a temperatura ambiente e com isso, atribui-se as menores perdas ocorridas durante o armazenamento néctar possivelmente em razão de um menor índice de reações oxidativas desencadeados durante o armazenamento congelado.

O néctar de amora-preta elaborado por Leitão (2007) apresentou um teor de compostos fenólicos ($169,3\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ ácido gálico) menor e um teor de antocianinas totais 5 vezes mais baixo que o encontrado no néctar elaborado neste estudo (tab. 2.4). As diferenças apresentadas devem-se principalmente ao processo de pasteurização utilizado na elaboração do néctar no trabalho de Leitão (2007) que aumentam a velocidade de degradação dos compostos fenólicos.

3.2.3 Correlação entre os parâmetros físico-químicos e a atividade antioxidante do néctar de amora-preta

A tab. 2.5 apresenta os resultados das análises de correlação de Pearson realizadas entre as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante de néctar de amora-preta.

Tabela 2.5 – Coeficientes de correlação de Pearson para as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante de néctar de amora-preta submetido a armazenamento congelado ($-18\pm 2^\circ\text{C}$)

Variáveis	Compostos fenólicos totais	Antocianinas totais	Ácido ascórbico	Atividade antioxidante
Compostos fenólicos totais	-	0,38 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,78*
Antocianinas totais		-	0,90*	0,69*
Ácido ascórbico			-	0,77*
Atividade antioxidante	0,78	0,69	0,77	-

*nível de significância a 5% de probabilidade, pelo teste t;

ns: não significativo;

(-): não existe correlação.

Os resultados mostram haver correlação significativa ($p\leq 0,05$) entre as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais e ácido ascórbico com a atividade antioxidante em néctar de amora-preta, evidenciando tendência a aumentar a atividade antioxidante do produto conforme o aumento do teor dessas substâncias. Além disso, verificou-se também haver forte correlação entre as variáveis antocianinas totais e ácido ascórbico, com respectivo comportamento

simultâneo, indicando que à medida que os compostos antociânicos se degradam os teores de ácido ascórbico também tendem a diminuir, comprovando as observações já mencionadas neste estudo.

SANTOS et al. (2008) também evidenciaram correlação positiva entre as variáveis compostos fenólicos e antocianinas totais com a atividade antioxidante de polpas de açaí, atribuindo os elevados valores de atividade antioxidante das polpas a esses compostos. KALT et al. (1999) também encontraram correlação positiva entre a capacidade antioxidante total e os teores de antocianinas totais e compostos fenólicos totais de pequenas frutas como morango, framboesa e mirtilo.

4 CONCLUSÃO

As características físico-químicas e o potencial antioxidante do néctar de amora-preta mantiveram-se praticamente estáveis ao longo dos 90 dias de armazenamento congelado. As alterações mais expressivas ocorreram em relação ao potencial antioxidante do produto e foram evidenciadas aos 75 dias de armazenamento. Nesse observou-se um ligeiro declínio nos teores totais de compostos fenólicos, antocianinas e vitamina C, indicando haver total relação entre esses compostos e o potencial antioxidante do produto avaliado.

5 REFERÊNCIAS

AGAR, I.T.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Effect of CO₂ and controlled atmosphere (CA) on the ascorbic and dehydroascorbic acid content of some berry fruits. **Postharvest Biology and Technology**, v.11, p.47-55, 1997.

ANTUNES, L.E.C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.151-158, 2002.

ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C.M. de. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.3, p.413-419, 2003.

ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D.; TREVISAN, R. Alterações de compostos fenólicos e pectina em pós-colheita de frutos de amora-preta. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.12, n.1, p.57-61, 2006.

ARAÚJO, P.F. de; DUARTE, A.P; RODRIGUES, R. da S. Influência do processo de pasteurização no teor de vitamina C de polpa de amora-preta congelada. In: Congresso de Iniciação Científica e Encontro de Pós-graduação. 14., 2006, Pelotas. **Anais do...**, 2006 (a).

ARAÚJO, P.F. de; DUARTE, A.P; RODRIGUES, R. da S. Caracterização química de diferentes frutos de amoreira-preta (*Rubus* spp.). In: Congresso de Iniciação Científica e Encontro de Pós-graduação. 14., 2006, Pelotas. **Anais do...**, 2006 (b).

ARAÚJO, P.F. de.; LEITÃO, A.M., RODRIGUES, R. da S. Teor de compostos fenólicos totais em polpa de amora-preta preservada por métodos combinados. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. 7., 2007, Campinas. **Anais do...**, 2007.

BARBOZA, G.L.G. **Obtenção e caracterização de sucos clarificados de amora-preta (*Rubus spp.L.*)**. 1999. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal Pelotas, Pelotas.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. de. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. v.3, São Paulo: Editora Atheneu, 1998. 337p.

BOBBIO, G.O.; BOBBIO, P.A. **Química do processamento de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Editora Varela, 1992. 238p.

CHIM, J.F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus sp.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e**

light. 2008. 86f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 109p.

CONTRERAS, G.E.; STRONGIII, F.C.; GUERNELLI, O. Determinação de ácido ascórbico (Vitamina C) por redução de íons cúpricos. **Química Nova**, p.60-64, 1984.

CORREA-NETO, R.S.; FARIA, J.A.F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.153-160, 1999.

DA SILVA, F.C.; GUIMARÃES, D.H.P.; GASPARETTO, C.A. Reologia do suco de acerola: efeitos da concentração e temperatura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.121-126, 2005.

DUARTE, A.P.; ARAÚJO, P.F. de; RODRIGUES, R. da S. Avaliação do teor de pectina de amora-preta cultivar Tupy. In: Congresso de Iniciação Científica e Encontro de Pós-graduação. 14., 2006, Pelotas. **Anais do...**, 2006.

ECONOMOU, K.D.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C.D. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.68, n.2, p.109-113, 1991.

FERREIRA, G.M.; QUEIROZ, A.J. de M.; CONCEIÇÃO, R.S. da; GASPARETTO, C.A. Efeito da temperatura no comportamento reológico das polpas de caju e goiaba. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.4, n.2, p.175-184, 2002.

FRANKEL, E.N. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Food Science Technology**, v.4, p.220-225, 1993.

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. Quantitative methods for anthocyanins 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, v.33, p.72-77, 1968.

GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. 284p.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GOMEZ, M.L.P.A.; MOTA, R.V. da; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Compostos antioxidantes da amora-preta (*Rubus* sp.). In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 19., 2004, Recife. **Anais do...**, n.424, 2004.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, v.1, 1985. 533p.

JAEKEL, L.Z. **Bebida funcional com extratos de soja e de arroz e sua influência no colesterol e glicemia**. 2008. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

JURD, L. Some advances in the chemistry of anthocyanin-type plant pigments. In: **The chemistry of plant pigments**. New York: Academic Press. 1972.

KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.11, p.4638-4644, 1999.

KIRALP, S.; TOPPARE, L. Polyphenol content in selected Turkish wines, an alternative method of detection of phenolics. **Process Biochemistry**, v.41, p.236–239, 2006.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; GARCÍA-PARILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, 2004.

LEITÃO, A.M. **Estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de néctar de amora-preta (*Rubus spp.*), Cv. Tupy, embalado em polipropileno, no armazenamento**. 2007. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LAVINAS, F.C; ALMEIDA, N.C. de; MIGUEL, M.A.L.; LOPES, M.L.M.; VALENTE-MESQUITA, V.L. Estudo da estabilidade química e microbiológica do suco de caju *in natura* armazenado em diferentes condições de estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.875-883, 2006.

MÄÄTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN, A.R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6178-6187, 2004.

MACHADO, M.R.G. **Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional**. 2007. 101f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends Food Science Technology**, v.6, p.271-277, 1995.

MAEDA, R.N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L.K.O.; CHAAR, J.M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.313-316, 2007.

MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S. da. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do CEPPA**, v.24, n.1, p.59-82, 2006.

MELO, E. de A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G. de; NASCIMENTO, R.J. do. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p.193-201, 2008.

MENEZES, J.B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, v.17, n.180, p.13-17, 1994.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN BEEK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v.87, p.231-237, 2004.

MOTA, R.V. da. Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extrator caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.303-308, 2006.

MOYER, R.A.; HUMMER, K.E.; FINN, C.E.; FREI, B.; WROSTAD, R.E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus and Ribes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.519-525, 2002.

NACHTIGALL, A.M.; SOUZA, E.L. de; MALGARIM, M.B.; ZAMBIAZI, R.C. Geléias *light* de amora-preta. **Boletim do CEPPA**, v.22, n.2, p.337-354, 2004.

NAGY, S.; CHEN, C.S.; SHSW, P.E. **Fruit juice processing technology**. Auburndale, Florida: Agscience, Inc. 1999. 699p.

OLIVA, P.B. **Estudo do armazenamento da acerola in natura e estabilidade do néctar de acerola**. 1995. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PEDRÃO, M.R.; BELEIA, A.; MODESTA, R.C.D.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Estabilidade físico-química e sensorial do suco de limão Tahiti natural adoçado, congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, 1999.

PELEGRINI D.H.; VIDAL, J.R.M.B.; GASPARETTO, C.A. Estudo da viscosidade aparente das polpas de manga (Keitt) e abacaxi (Pérola). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.1, p.128-131, 2000.

QUEIROZ, A.J. **Análise do comportamento reológico dos sucos de manga e abacaxi**. 1998. 109f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

QUINTEROS, E.T.T. **Processamento e estabilidade de néctares de acerola-cenoura**. 1995. 96f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RASEIRA, M.C.; ANTUNES, L.E. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 54p.

SANTOS, G.M. dos; MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M. de; COSTA, J.M.C. da; FIGUEIREDO, R.W. de; PRADO, G.M. do. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea Mart*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.58, n.2, p.187-192, 2008.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 2432-2438, 2002.

SILVA, M.F.V. **Efeito dos diferentes tratamentos e embalagens nas características da polpa de acerola e na determinação dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o armazenamento**. 1999. 224f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

STATISTICA for Windows – release 6.0 A. Tula: Statsoft Inc., 2001.

TANGLERTPAIBUL, T.; RAO, M.A. Rheological properties of tomato concentrates as affected by particle size and methods of concentration. **Journal of Food Science**, v.52, n.1, p.141-145, 1987.

TORRES, L.B.V.; QUEIROZ, A.J. de M.; FIGUEIRÊDO, R.M.F. Viscosidade aparente da polpa de umbu-cajá concentrada a 10°C. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.2, p.161-168, 2003.

VEAZIE, P.P.; COLLINS, J.K. Quality of erect-type blackberry frit after short intervals of controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.25, p.235-239, 2002.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M.T.; TONZAR, A.C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J.G. Produtos de acerola: estudos da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v.23, n.1, p.92-94, 2003.

WANG, S.Y.; LIN, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.2, p.140-146, 2000.

CAPÍTULO III – FUNCIONALIDADE DE NÉCTAR DE AMORA-PRETA (*Rubus* spp.) SOBRE OS LIPÍDIOS SÉRICOS, GLICOSE SANGUÍNEA E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM HAMSTERS (*Mesocricetus auratus*) HIPERCOLESTEROLÊMICOS

1 INTRODUÇÃO

O interesse pelos benefícios que os alimentos podem trazer à saúde é bastante antigo. Em 4 a.C. o grego Hipócrates, considerado o pai da medicina, dizia: "Faz da comida o teu remédio". No entanto, nos tempos atuais, nos países ocidentais o que se vê é o aumento de doenças crônico-degenerativas em função, entre outras possíveis causas, de uma dieta inadequada (CARDOSO, 2004).

Acredita-se que a dieta desempenhe um importante papel nas principais enfermidades que acometem a sociedade atual: doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão e obesidade. A principal causa relacionada a essas doenças é o consumo intenso de gorduras do tipo saturada, associado, em contrapartida, ao baixo consumo de alimentos como frutas e hortaliças, as quais podem conter compostos com ação antioxidante com possível efeito protetor ao organismo contra essas patologias (NESS e POWLES, 1997).

A hipercolesterolemia é uma das principais causas da ocorrência de doença cardiovascular porque o colesterol, um dos principais fatores relacionados à aterosclerose, é capaz de exercer um efeito pró-oxidante. Através da hipercolesterolemia há um aumento no teor de colesterol em hemácias, plaquetas, leucócitos e células endoteliais. Este acréscimo leva ao aumento da produção de oxigênio e com isso, de radicais livres (KOK et al., 1991). Estes desempenham um papel importante na patogênese de doenças degenerativas, em virtude dos processos de peroxidação lipídica que promovem a oxidação das lipoproteínas (LDL), gerando espécies reativas que podem reagir com o oxigênio na parede vascular (WITZTUM, 1987) e assim aumentar ainda mais a intensidade das lesões causadas.

Pesquisas têm relatado que o interesse em alimentos específicos que representem determinado papel na manutenção da saúde tem crescido nos últimos anos. Dentro desse contexto surgiu o termo “alimentos funcionais” os quais, embora ainda sem um conceito legal aceito internacionalmente, são definidos de forma abrangente como qualquer alimento, natural ou preparado, que contenha uma ou mais substâncias classificadas como nutrientes ou não-nutrientes, capazes de atuarem no metabolismo e na fisiologia humana, promovendo efeitos benéficos à saúde, podendo retardar o estabelecimento de doenças crônicas e/ou degenerativas e melhorar a qualidade e a expectativa de vida das pessoas (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005).

Alguns compostos bioativos presentes na amora-preta (*Rubus spp.*) possuem a capacidade de atuarem como antioxidantes naturais tornando o alimento capaz de minimizar alguns efeitos causados no organismo por espécies reativas de oxigênio. Os compostos fenólicos, assim como algumas vitaminas, presentes na amora-preta, atraem grande interesse dos pesquisadores por constituírem grupos de antioxidantes naturalmente presentes na dieta humana que podem vir a prevenir a ocorrência de doenças degenerativas (SAKAKIBARA et al., 2003).

Entretanto, apesar das evidências, pouca coisa ainda se sabe em relação à funcionalidade de produtos processados prontos para o consumo, os quais, na maioria das vezes, são preferencialmente adquiridos pelas pessoas em virtude principalmente de uma maior praticidade de consumo. São necessários maiores estudos sobre a funcionalidade desses produtos, buscando verificar o quão eles são capazes de atuarem no organismo e promover efeitos fisiológicos benéficos similares as suas substâncias de origem. É de extrema importância se verificar a capacidade de atuação de substâncias bioativas presentes nos produtos processados considerando que, nesses alimentos, estas substâncias muitas vezes podem estar em menores concentrações, parcialmente degradadas ou até mesmo terem sido transformadas em outros compostos que não desempenhem a atividade esperada.

1.1 Objetivo

Verificar o efeito do néctar de amora-preta (*Rubus* spp.) sobre os lipídios séricos (triacilglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL colesterol), a peroxidação lipídica e a glicose sanguínea em hamsters hipercolesterolêmicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Néctar de amora-preta

Formulado a partir de frutos de amoreira-preta (*Rubus* spp.), cv. Tupy, safra 2007/2008 elaborado conforme experimento anterior (Capítulo II, item 2.2.2) e mantido congelado até a sua utilização. A bebida, na noite anterior à administração aos animais, era retirada do freezer e colocada em geladeira para descongelamento e posterior administração.

2.2 Ensaio biológico

O experimento foi conduzido no Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), durante o período de março a julho de 2008.

O protocolo para a condução do ensaio biológico, número 01/08 (anexo 1), foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas.

2.2.1 Animais

Foram utilizados 28 hamsters machos (*Mesocricetus auratus*) da linhagem *Golden syrian*, recém desmamados (25 dias), provenientes do Biotério Central da UFPel, com peso variando entre 42 e 56 gramas, e peso médio aproximado de 45 gramas.

O hamster é proposto como a espécie ideal para o estudo do metabolismo lipídico, uma vez que é considerado o animal mais próximo dos humanos quanto ao metabolismo de lipídios, lipoproteínas e ácidos biliares (SPADY e DIETSCHY, 1983; SUCKLING et al., 1991). Quando comparado a outros modelos animais, os hamsters apresentam algumas vantagens, pois assim como em humanos o principal transportador plasmático de colesterol é a LDL (lipoproteína de baixa densidade),

sendo que o gene do receptor de LDL em hamsters foi isolado e caracterizado, mostrando forte similaridade com o gene humano. Além disso, estes animais desenvolvem hipercolesterolemia semelhante à humana quando alimentados com dietas ricas em colesterol (SIMA et al., 2001).

Durante todo o experimento os animais foram mantidos em gaiolas individuais de polipropileno (41x34x16cm) com fundo sólido, tampa de grade galvanizada com malha de 7,5mm, comedouro em “V” e divisórias, separando o comedouro do bebedouro. As gaiolas tinham o piso coberto por uma camada de maravalha servindo como cama e isolante térmico aos animais. Durante o experimento o laboratório permaneceu sob condições de luz e temperatura controladas com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

O experimento foi conduzido num total de 103 dias, dos quais os primeiros 5 foram destinados à adaptação dos animais às condições do ambiente e à dieta padrão para a espécie (ração comercial Biotec[®]). Durante todo o experimento os animais receberam água *ad libitum*.

Ao final do período de adaptação os animais foram pesados e redistribuídos em quatro grupos ($n = 7$), mantendo-se o peso médio dos grupos (aproximadamente 45g) de maneira que a diferença entre os mesmos fosse a mínima possível.

2.2.2 Dietas

Os animais recebiam como dieta base ração comercial própria para roedores, marca Biotec[®] (Biobase Alimentação Animal, Águas Frias - SC), com a seguinte composição química:

Tabela 3.1 – Composição química de ração comercial para roedores, marca Biotec[®]

Composição química	Valores médios (%)
Umidade	12,0 máx.
Proteína bruta	22,0 mín.
Extrato etéreo	4,0 mín.
Minerais	10,0 máx.
Matéria fibrosa	8,0 máx.
Cálcio	1,4 máx.
Fósforo	0,8 mín.

Fonte: dados fornecidos pelo fabricante (BIOBASE – Alimentação Animal)

Diariamente os animais recebiam 13g de ração, acrescida de 0,3% de bitartarato de colina, conforme quantidade definida com base em estudos desenvolvidos com hamsters (BLAIR et al., 2002; MACHADO, 2007). De acordo com Luca et al. (1996) as necessidades nutricionais para hamsters, em percentual por kilograma de ração, são de 18-24% de proteínas, 4-20% de lipídios, 5-15% de fibras e 65% de carboidratos.

A colina, na forma de bitartarato de colina, foi incorporada à dieta dos animais objetivando facilitar o transporte e metabolismo dos lipídios, uma vez que a presença da mesma é necessária para a síntese da fosfatidilcolina, substância essencial para a secreção da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) promotora do transporte lipídico do fígado para os demais tecidos do organismo (ZEISEL e BLUSZTAJN, 1994).

O experimento conteve 4 grupos experimentais, com 7 animais cada, conforme descrição abaixo:

- Controle: animais alimentados com 13g diárias de ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina;
- Bebida (B): animais alimentados com 13g diárias de ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta;
- Colesterol (C): animais alimentados com 13g diárias de ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol cristalino (m/m);
- Colesterol + bebida (CB): animais alimentados com 13g diárias de ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol cristalino (m/m) + 5mL de néctar de amora-preta.

A bebida era administrada diariamente no período da manhã, em torno das 8 horas, em bebedouros plásticos, imediatamente após a retirada da água e da ração remanescente, a qual era pesada para controle de ingesta. O procedimento de retirada da água e da ração remanescente também era realizado com os grupos que não recebiam a bebida (Controle e Colesterol) para que esses animais sofressem o mesmo grau de estresse dos demais (B e CB). Após a ingesta da bebida todos os animais recebiam 13g de ração e água. A quantidade de néctar administrada aos

animais foi estabelecida com base no peso médio dos mesmos, tendo como parâmetros os observados para humanos, onde, considerando peso corpóreo médio de 60kg, o consumo de 200mL de bebida diários seriam suficientes para que se obtivesse o efeito desejado. (RODRIGUES, 2003)

A dieta, acrescida de colina, foi preparada semanalmente através de dissolução do bitartarato de colina em pó em etanol a 46% (v/v) na temperatura de 50°C, com imediata adição à ração na proporção de 0,3%, seguido de evaporação em estufa com circulação de ar a 50°C.

A dieta hipercolesterolêmica foi preparada semanalmente através de dissolução de colesterol em pó (Eskisa, São Paulo) em etanol a 96% (v/v) na temperatura de 50°C, com imediata adição à ração na proporção de 0,1%, seguido de evaporação em estufa com circulação de ar a 50°C (MACHADO, 2007; RODRIGUES, 2003).

No decorrer do experimento foi realizado, diariamente, pesagem da ração remanescente com o objetivo de se determinar a quantidade diária de ingesta por animal. O peso corporal dos animais foi registrado a cada 7 dias para avaliação do ganho de peso semanal dos mesmos. Estes dados, além de expressarem o ganho de peso e a ingestão de ração por animal, são utilizados para determinar o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), calculado pela razão entre o ganho de peso e a quantidade total de ração ingerida durante o experimento.

2.3 Avaliações bioquímicas

Após o término do período de adaptação (7 dias), para a determinação dos níveis basais sanguíneos, foram realizadas análises de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e de triacilglicerídeos em 4 animais, machos, desmamados aos 25 dias, e alimentados com ração comercial (Biotec[®]) durante uma semana (período de adaptação).

Ao final do experimento (98 dias) amostras de sangue de cada animal foram coletadas por punção cardíaca, estando os animais em jejum de 12-14 horas e sob

anestesia inalatória em campânula com éter. O sangue foi coletado com auxílio de seringas descartáveis.

2.3.1 Glicose sanguínea

Após a coleta de sangue alíquota do mesmo foi imediatamente avaliada em equipamento ACCUTREND GCT (Laboratórios Roche do Brasil[®]) o qual fornece a dosagem direta de glicose no sangue.

2.3.2 Triacilglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL-colesterol no soro

O sangue de cada animal foi centrifugado a 1000g durante 15 minutos, a temperatura de 4°C, objetivando a obtenção do soro, que foi mantido em congelador (-12°C) para posterior análise. As determinações de triacilglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol foram realizadas através de métodos enzimáticos Triglicérides Liquiform, Colesterol Liquiform e HDL LE (Labtest Diagnóstica S.A.[®], Lagoa Santa - MG) respectivamente. A fração LDL-colesterol foi calculada utilizando-se a Fórmula de Friedewald (equação 3.1) conforme Cordova et al. (2004).

$$\text{LDL colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL colesterol} - (\text{triacilglicerídeos}/5)$$

Equação 3.1 – Cálculo de LDL-colesterol

2.3.3 Peroxidação lipídica em soro

O método baseia-se na avaliação da peroxidação lipídica através da medida da concentração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA). Durante a reação o malondialdeído (MDA), um dos principais produtos gerados durante as diferentes fases do processo de lipoperoxidação, reage com o ácido tiobarbitúrico formando um pigmento rosa claro com absorbância máxima entre 532-535nm.

Parte do soro obtido da centrifugação do sangue de cada animal (item 2.3.2) foi analisado de acordo com a metodologia descrita por Winterbourn; Gutteridge; Halliwell (1985), com modificações. Até o momento de ser avaliada a porção de soro destinada para essa determinação foi mantida em ultrafreezer a -80°C. Alíquotas de 200µL de soro foram transferidas para tubos de centrífuga com capacidade para

5mL. Em seguida acrescentou-se 200 μ L de HCl 25% (v/v), 25 μ L de BHT 2% (p/v) em etanol e 200 μ L de TBA 1% (p/v) em NaOH 0,05M. A mistura foi agitada e os tubos colocados em banho-maria fervente por 10 minutos. Após, os tubos foram resfriados em água gelada e acrescentados 600 μ L de álcool n-butanol. A mistura foi centrifugada a 1000g, à temperatura de 4°C, durante 10 minutos. O sobrenadante obtido foi utilizado para a realização da leitura das absorbâncias das amostras em comprimento de onda de 532nm através, de espectrofotômetro Analytikjena AG modelo Spekol 1300. Os resultados foram expressos em nmol MDA.mL⁻¹ de soro, sendo calculados através de curva padrão de TMP (1,1,3,3 tetrametoxipropano) com equação da reta $y = 0,3033x - 0,0613$ e $R^2 = 0,9561$.

2.3.4 Peroxidação lipídica em homogenatos de cérebro, intestino e fígado

A obtenção dos homogenatos dos órgãos de cada animal consistiu em pesar 0,3g de tecido e adicionar solução tampão fosfato de potássio 20mM com KCl 140mM, pH 7,4 na proporção de 1:10 (p/v). A mistura foi homogeneizada e centrifugada a 1790g por 15 minutos a 4°C (WINTERBOURN; GUTTERIDGE; HALLIWELL, 1985). Alíquotas de 500 μ L do sobrenadante obtido foram colocados em tubos de centrífuga, acrescentando juntamente 500 μ L de HCl 25% (v/v), 45 μ L de BHT etanólico 2% (p/v) e 500 μ L de TBA 1% em NaOH 0,05M. A mistura foi homogeneizada em agitador de tubos e após mantida os mesmos em banho-maria fervente por 10 minutos.

Após o banho-maria, os tubos foram resfriados em água gelada e em cada um foi acrescentado 1,5mL de álcool n-butanol. A mistura foi agitada vigorosamente e centrifugada a 1790g, na temperatura de 4°C, durante 10 minutos. Foram coletadas as fases superiores (fração butanólica) para a realização das leituras das absorbâncias das amostras, em espectrofotômetro Analytikjena AG modelo Spekol 1300, no comprimento de onda de 532nm. Os resultados foram obtidos utilizando-se curva padrão de TMP (1,1,3,3 tetrametoxipropano) com equação da reta $y = 0,3033x - 0,0613$ e $R^2 = 0,9561$.

2.4 Avaliações histopatológicas

Após a eutanásia os animais tiveram seus órgãos (fígado, intestino delgado e grosso, pâncreas, baço, rim, pulmões, coração, cérebro e aorta) removidos e, a exceção do intestino delgado e cérebro, preservados em formol tamponado a 10% (v/v). O fígado foi previamente pesado e segmentado destinando-se o lobo direito para as avaliações histopatológicas. O intestino delgado, o cérebro e a porção restante do fígado foram empacotados em papel alumínio e congelados em ultrafreezer a -80°C para posterior avaliação da peroxidação lipídica.

Os demais órgãos (lobo direito do fígado, coração, aorta, intestino grosso, baço, rim, pâncreas e pulmões) foram clivados em cinco fragmentos seriados de cada um e incluídos em parafina objetivando a obtenção de cortes histopatológicos com 5µm de espessura, os quais foram corados por hematoxilina-eosina (HE) (BEHMER; TOLOSA; FREITAS NETO, 1976). Os procedimentos foram realizados pela equipe do laboratório de Histotecnia e Histoquímica do Departamento de Patologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária/UFPel, sendo as amostras avaliadas sem o conhecimento prévio dos grupos de animais aos quais pertenciam os órgãos ou das lesões relatadas no momento da eutanásia. Após o tratamento, as amostras foram avaliadas por microscopia de luz.

Através das avaliações histopatológicas buscou-se verificar a integridade ou a presença de lesões em cada órgão avaliado; a presença de qualquer alteração, caracterizando o processo, a distribuição e a extensão; presença de degeneração gordurosa hepática (esteatose); integridade das vilosidades intestinais; integridade da aorta abdominal, objetivando detectar a presença de macrófagos subendoteliais ou a deposição de placas ateromatosas.

2.5 Avaliação das fezes

As fezes foram coletadas diariamente durante a última semana do experimento, sendo as mesmas pesadas, empacotadas em papel alumínio e armazenadas a -12°C até o momento da análise. Durante a coleta os animais eram removidos de suas gaiolas e transportados, temporariamente, para outras gaiolas tornando possível a vistoria das maravalhas e posterior remoção das fezes.

2.5.1 Determinação de lipídios

Anteriormente à determinação de lipídios, as fezes foram secas em estufa a $50\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Após foram moídas (com a ajuda de almofariz e pistilo) e alíquotas de 3g das fezes de cada animal foram pesadas. As determinações foram realizadas em triplicata de acordo com Bligh e Dyer (1959).

As alíquotas pesadas foram transferidas para tubos de ensaio com capacidade para 70mL, adicionando-se exatamente 10mL de clorofórmio, 20mL de metanol e 8mL de água destilada. A mistura foi agitada em agitador rotativo (homogeneizador de sangue modelo Phoenix AP 22) por 30 minutos. Após foi adicionado 10mL de clorofórmio e 10mL de solução de sulfato de sódio 1,5%, sendo a mistura agitada vigorosamente por 2 minutos. As camadas formadas foram separadas succionando e descartando a camada metanólica superior. Após, a camada inferior foi filtrada em papel filtro quantitativo, transportando-se o filtrado para um tubo de ensaio com capacidade para 30mL. Foi medido 5mL do filtrado transferindo o mesmo para um béquer de 50mL previamente tarado. O solvente foi evaporado em estufa a 100°C . O conteúdo total de lipídios presente nas fezes de cada animal foi calculado de acordo com a equação 3.2.

$$\% \text{ lipídios totais} = \frac{\text{peso dos lipídios} \times 4 \times 100}{\text{peso da amostra (g)}}$$

Equação 3.2 – Cálculo do percentual total de lipídios em fezes

2.6 Medidas antropométricas

Após a eutanásia, antes da abertura do abdômen dos animais, foi realizada a medida do comprimento vértice-cóccix e o comprimento entre os membros torácicos, com o auxílio de fita métrica. Juntamente, foi realizada a medida da circunferência do abdômen de cada animal, também com o auxílio de fita métrica. As medidas foram expressas em centímetros.

2.7 Avaliação da gordura corporal

Os procedimentos realizados para a remoção da gordura corporal dos animais consistiram em remover as gorduras mesentérica, renal e inguinal. As mesmas foram pesadas separadamente em balança analítica e posteriormente seus pesos foram somados para que assim fosse possível estimar o conteúdo de gordura corporal presente. Os resultados foram expressos em gramas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Indicativos biológicos dos animais experimentais

Os animais apresentaram, no início do experimento, peso médio de 45g e ao final 100g. A Fig. 3.1 corresponde à curva de variação de peso dos grupos de animais em observação durante 98 dias de experimento.

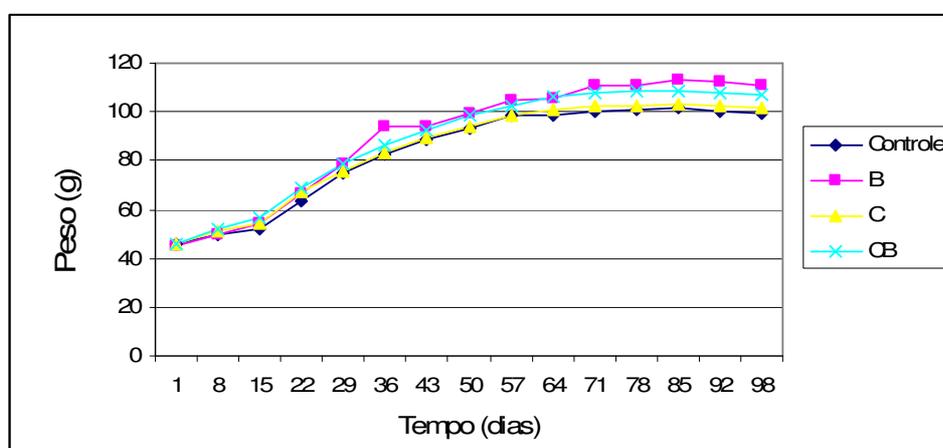


Figura 3.1 – Variação de peso dos animais submetidos a diferentes dietas durante 98 dias de experimento.

Dia 1: após período de adaptação de 5 dias com ração comercial;
 Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartrato de colina;
 B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartrato de colina + 5mL de néctar de amora-preta;
 C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartrato de colina e 0,1% de colesterol;
 CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartrato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

Durante os primeiros 29 dias de experimento os grupos apresentaram variação de peso muito próxima, a partir dos quais os grupos B e CB começaram a diferenciar-se, apresentando maiores pesos até o final do experimento. Os grupos Controle (ração sem adição de colesterol) e C (ração com adição de colesterol) mostraram variação de peso similar durante todo o período experimental indicando que provavelmente o percentual de colesterol (0,1%) adicionado à dieta dos grupos C e CB não tenha sido suficiente para promover maior ganho de peso em relação

aos grupos que não ingeriam colesterol (Controle e B). De acordo com Jaekel (2008), hamsters machos tratados com dieta hipercolesterolêmica com 0,2% de colesterol apresentaram maior ganho de peso quando comparados ao grupo controle (ração sem adição de colesterol). Assim, pode-se dizer que o fator preponderante para o maior ganho de peso dos grupos B e CB, tenha sido a ingestão do néctar de amora-preta, produto adicionado de açúcar até a concentração de 13^oBrix.

Ao final do experimento todos os grupos apresentaram discreta redução de peso, o que pode ser explicado em função do jejum ao qual os animais são submetidos no dia anterior à eutanásia.

Na tab. 3.2 estão as modificações ponderais observadas nos animais, decorrentes das diferentes dietas administradas, durante o período experimental de 98 dias.

Tabela 3.2 – Peso corporal (g), ganho de peso (g), consumo diário de ração, ingestão de ração, coeficiente de eficiência alimentar (CEA), peso do fígado e relação entre peso do fígado e peso corporal em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

Determinações	DIETAS**			
	Controle	B	C	CB
Peso inicial (g)	45,77±2,88 ^a	45,43±3,26 ^a	45,68±3,25 ^a	45,71±3,89 ^a
Peso final (g)	99,11±4,53 ^a	110,74±18,81 ^a	101,58±7,17 ^a	107,04±12,37 ^a
Ganho de peso total (g)	53,34	65,31	55,90	61,33
Consumo diário (g)	6,35±0,34 ^a	6,76±1,75 ^a	6,51±0,44 ^a	6,26±0,64 ^a
Ingestão total (g)	4359,0	4640,4	4467,0	4298,2
CEA	0,01	0,01	0,01	0,01
Peso do fígado (g)	2,88±0,23 ^b	3,21±0,76 ^{ab}	3,48±0,35 ^{ab}	3,74±0,39 ^a
Peso do fígado / peso corpóreo	0,029	0,029	0,034	0,035

Os valores representam as médias de 7 repetições ± desvio padrão;

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade (p≤0,05);

*Após período de adaptação de 5 dias com ração comercial;

**Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

O peso final dos animais alimentados com dieta padrão (Controle) não diferiu significativamente (p≤0,05) dos demais grupos experimentais (B, C e CB). Contudo, os grupos que recebiam o néctar de amora-preta (B e CB) apresentaram maior ganho de peso quando comparados a seus controles (Controle e C), equivalendo a

18,3 e 13,02%, respectivamente. Os dados apresentaram-se pouco mais elevados que os de Machado (2007), em experimento com hamsters machos submetidos a diferentes dietas (entre elas ração com 0,2% de colesterol e bebida de soja probiótica e não probiótica) durante 90 dias, onde verificou um ganho de peso mínimo e máximo entre os grupos de 34 e 52g. Os resultados também não concordaram com Martinello (2006) e Jaekel (2008), onde o primeiro verificou ganho de peso variando entre 22,3 e 46,4g após 70 dias de experimento com hamsters machos sob dieta 0,1% de colesterol e extrato de tamarindo; e o segundo, ganho de peso variando entre 44,19 e 49,95g após 68 dias de experimento com hamsters machos sob dieta 0,2% de colesterol e bebida de soja e arroz. As diferenças encontradas podem estar relacionadas com o tempo dos experimentos e/ou com os pesos iniciais dos animais que ficaram em torno de 72,31, 66,31 e 129,4g no estudo de Jaekel (2008), Machado (2007) e Martinello (2006), respectivamente. Neste trabalho os pesos iniciais dos animais ficaram em torno de 45g (tab. 3.2).

O consumo diário médio dos animais, em torno de 6g, não diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) entre os grupos experimentais. Os resultados concordam com Martinello (2006), o qual verificou um consumo diário em torno de 6g para hamsters machos alimentados com dieta colesterol 0,1% e extrato de tamarindo.

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA), resultado da razão entre o ganho de peso total e o consumo total de ração durante todo experimento (98 dias), foi equivalente para todos os grupos, indicando semelhança entre os mesmos na conversão do alimento ingerido e que provavelmente, não tenha sido o percentual de colesterol adicionado à dieta que promoveu o aumento de peso nos animais e sim a ingestão do néctar de amora-preta.

Relacionando o peso do fígado às diferentes dietas administradas aos animais, aqueles grupos que receberam dieta hipercolesterolêmica (C e CB), independente das demais características, apresentaram médias de peso do fígado superiores aos grupos que não receberam ração acrescida de colesterol (Controle e B). Os animais dos grupos C e CB apresentaram peso do fígado em torno de 20 e 30% maior, respectivamente, do que os do grupo Controle. Segundo Machado et al. (2003), o aumento de peso do fígado nos animais hipercolesterolêmicos dá-se em

função da deposição de colesterol que ocorre no órgão. Avaliando trabalhos com hamsters machos hipercolesterolêmicos verifica-se ser diretamente proporcional a relação entre o percentual de colesterol adicionado à dieta e o aumento no peso do fígado. Jaekel (2008) e Machado (2007) trabalhando com ração acrescida de 0,2% de colesterol verificaram aumento de peso do fígado nos grupos colesterol maior do que o evidenciado nesse estudo (tab. 3.2), em torno de 40 e 100%, respectivamente. Entretanto, o menor acúmulo de colesterol por parte dos animais aqui analisados pode ter ocorrido também em função do bitartarato de colina incorporado à dieta administrada, que ao reforçar ou favorecer a formação de lecitina (fator lipotrópico) contribui para a mobilização dos lipídios hepáticos. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar o papel da colina como agente lipotrópico, incluindo sua ausência, o que conduz ao impedimento da síntese de fosfolipídios das lipoproteínas, causando aumento do fígado em função dos depósitos de gordura (MURRAY et al., 2002).

Outro fator que também pode ter contribuído para o excesso de gordura no fígado, e com isso o aumento de peso, é o conteúdo de açúcar ingerido pela dieta. Os animais (tab. 3.2) que ingeriram o néctar de amora-preta (adicionado de 13% de açúcar), grupos B e CB, apresentaram maior peso de fígado em relação a seus controles (grupo Controle e C), independente se a dieta era normo ou hipercolesterolêmica. A dieta rica em carboidratos (particularmente quando contém sacarose e frutose) conduz a altos níveis de lipogênese (conversão de carboidratos a triacilglicerol), aumentando os níveis de triacilglicerídeos no fígado e com isso os depósitos de gordura (MURRAY et al., 2002).

3.2 Avaliações bioquímicas

3.2.1 Níveis séricos de lipídios e de glicose plasmática

Os níveis de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e de glicose em hamsters após o consumo de néctar de amora-preta estão expressos na tab. 3.3.

Tabela 3.3 – Concentrações (mmol.L⁻¹ de soro) de colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicerídeos e glicose (mmol.L⁻¹ de plasma) em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

Avaliações bioquímicas	DIETAS				
	Basal	Controle	B	C	CB
Colesterol total	2,55±0,26	2,47±0,21 ^c	2,32±0,38 ^c	4,65±0,69 ^a	3,92±0,46 ^b
LDL	2,37±0,30	0,42±0,17 ^{bc}	0,23±0,21 ^c	1,36±0,3 ^a	0,76±0,31 ^b
HDL	0,22±0,02	1,89±0,16 ^b	1,97±0,22 ^b	3,12±0,65 ^a	3,04±0,59 ^a
HDL / LDL	0,09	4,50	8,56	2,29	4,00
Triacilglicerídeos	1,06±0,35	0,79±0,15 ^a	0,58±0,03 ^b	0,84±0,07 ^a	0,58±0,05 ^b
Glicose	Nd	7,20±1,07 ^a	7,57±1,57 ^a	7,92±1,61 ^a	8,47±1,30 ^a

Os valores representam as médias de 4 (basal) e de 7 repetições ± desvio padrão;

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

*Após período de adaptação de 5 dias com ração comercial;

**Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta;

***Nd = não determinado.

Segundo o Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da USP, citado por Frota (2007), os valores de referência para colesterol total e triacilglicerídeos em hamsters são de 1,04 a 2,43mmol.L⁻¹ de soro e de 1,41 a 2,42mmol.L⁻¹ de soro, respectivamente. Com base na referência citada a concentração de colesterol total evidenciada no início do experimento (basal) apresentou-se levemente acima, enquanto que o nível de triacilglicerídeos ficou abaixo do estabelecido. Entretanto, o nível basal de colesterol total concorda com o mencionado por Nistor et al. (1987), os quais relatam taxas normais de colesterol total para hamsters na ordem de 0,98 a 2,96mmol.L⁻¹ de soro. De acordo com esses mesmos autores a média do HDL deve ser de 0,93mmol.L⁻¹ de soro e do LDL de 0,67mmol.L⁻¹ de soro, não concordando com os resultados obtidos para o basal deste estudo, pois o HDL-colesterol apresentou-se abaixo e o LDL-colesterol acima do ideal. De acordo com Jaekel (2008), além da dieta e das características individuais, fatores como genótipo e condições ambientais também podem influenciar as frações lipídicas séricas destes animais.

Ao final do experimento (98 dias) os grupos submetidos à dieta hipercolesterolêmica (C e CB) diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) daqueles que recebiam ração sem colesterol (Controle e B) em relação ao total de colesterol, apresentando concentração superior do mesmo. Esses resultados mostram que, de

acordo com o Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da USP, citado por Frota (2007), os animais dos grupos C e CB atingiram a condição de hipercolesterolêmicos.

O néctar de amora-preta mostrou ter efeito hipocolesterolêmico ao reduzir as concentrações de colesterol total, LDL-colesterol e triacilglicerídeos nos grupos que ingeriram o produto. Entre os grupos colesterol (C e CB) os animais que ingeriram a bebida (CB) apresentaram teores de colesterol total, LDL e triacilglicerídeos significativamente ($p \leq 0,05$) menores, em torno de 16, 44 e 31% a menos, respectivamente (Fig. 3.2).

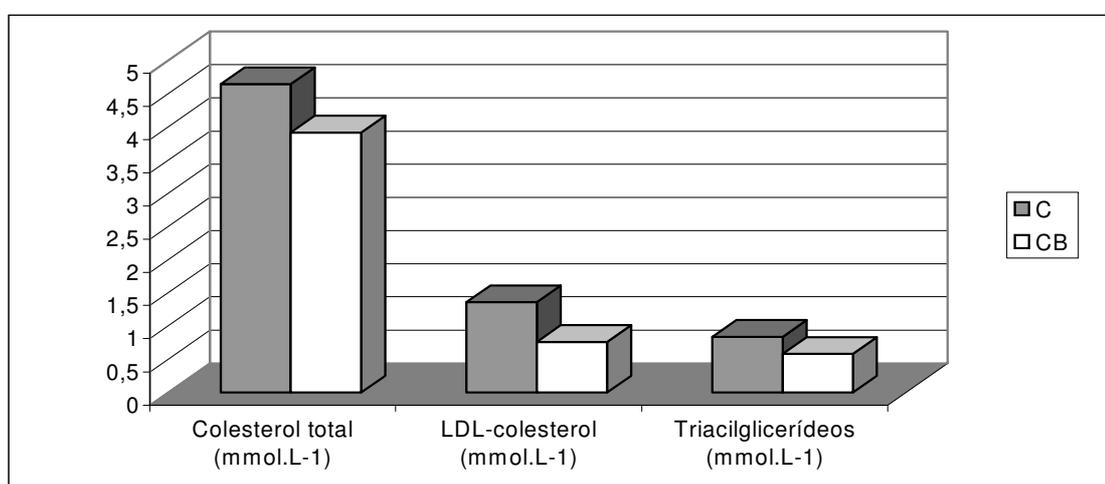


Figura 3.2 – Concentração de colesterol total, LDL-colesterol e triacilglicerídeos no soro de hamsters após o consumo de néctar de amora-preta durante 98 dias.

C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

Os resultados são concordantes com os obtidos por Yugarani et al. (1992), cujos estudos evidenciaram redução marcante de colesterol total, LDL-colesterol e triacilglicerídeos no plasma de ratos hiperlipidêmicos induzidos por dieta, quando tratados com o flavonóide quercetina, composto este também presente nos frutos de amoreira-preta.

O efeito benéfico relacionado a produtos ricos em compostos fenólicos também foi relatado por Cherem et al. (2007) em um estudo realizado com cobaias submetidas à dieta hiperlipídica com e sem a adição de casca da berinjela rica em

compostos antociânicos. Os autores verificaram redução nos níveis de colesterol total e LDL-colesterol, em torno de 45 e 54%, respectivamente, nos grupos submetidos à dieta hiperlipídica + casca de berinjela, não observando efeito positivo sobre os níveis de triacilglicerídeos. Ribeiro et al. (2004) avaliaram a capacidade da antocianina de uva em atuar sob os constituintes plasmáticos de coelhos saudáveis e verificaram uma redução de 17,38% nos níveis de colesterol total nos animais tratados com o composto. Estudos realizados com ratos hipercolesterolêmicos tratados com extrato de mirtilo relatam redução sérica nos níveis de LDL-colesterol (em torno de 46%) e aumento de HDL na ordem de 10% (COFFY, 2008). Oliveira et al. (2002) estudaram o efeito dos flavonóides quercetina e rutina (na dose de 5mg diárias) sob os níveis de colesterol total de ratos machos hiperlipidêmicos. Verificaram uma redução de 56,4% por parte da quercetina e de 55% por parte da rutina.

Diversos mecanismos de ação têm sido atribuídos aos compostos fenólicos para explicar seus efeitos no metabolismo lipídico. Um deles envolve suas ações no aumento da excreção de sais biliares nas fezes e outro abrange a capacidade de elevar a atividade do sistema microssomal hepático, aumentando, conseqüentemente, o metabolismo lipídico (MACDONALD; MADER; BUSSARD, 1983). Silva et al. (2001) relatam também que os flavonóides possuem a capacidade de estimular a atividade da lipase, promovendo uma redução nos níveis de triacilglicerídeos.

O mecanismo hipocolesterolêmico dos compostos fenólicos pode decorrer da ação sobre a absorção intestinal de colesterol, ou por efeitos sobre enzimas como a colesterol esterase (responsável pela hidrólise de ésteres de colesterol no lúmen intestinal), colesterol-7-alfa-hidroxilase (responsável pela degradação do colesterol e síntese de ácidos biliares), ACAT (AcetilCoA-colesterol-aciltransferase, responsável pela esterificação e armazenamento intracelular do colesterol) e HMGCoA (Hidroximetilglutaril Coenzima A) redutase (enzima limitante da síntese endógena de colesterol) (MARTINELLO, 2006). Compostos como as catequinas são capazes de promover maior excreção de colesterol nas fezes e, devido a isso, foi atribuída às mesmas possível redução da absorção intestinal de colesterol por diminuir a solubilidade micelar do mesmo de maneira-dose dependente (IKEDA et al., 1992).

A redução dos níveis de LDL-colesterol é extremamente importante em indivíduos hipercolesterolêmicos, pois concentrações plasmáticas elevadas de LDL são bastante associadas com a ocorrência de doenças arteriais coronarianas, como a aterosclerose. Tal patologia ocorre quando o LDL não entra nas células e permanece no sangue, acumulando-se nas paredes das artérias (GIRIBELA, 2007).

Quanto aos índices de HDL-colesterol, o mesmo aumentou em todos os grupos quando comparados ao basal. De acordo com Vilela (2009) níveis elevados de HDL-colesterol no sangue indicam baixa probabilidade de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma vez que as lipoproteínas HDL são responsáveis pelo transporte do colesterol endógeno de volta para o fígado, retirando-o das paredes das artérias.

Ao compararem-se os grupos sem colesterol (Controle e B), não há diferença estatística de HDL entre os mesmos, ocorrendo o mesmo fenômeno entre os grupos com colesterol (C e CB). Entretanto, ao relacionarem-se os grupos sem colesterol (controle e B) com os grupos colesterol (C e CB), ambos diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$), sendo observados teores de HDL maiores nos grupos colesterol. Os valores de HDL praticamente iguais entre os grupos com e sem bebida, em ambas as dietas administradas, evidenciam não ter havido influência do néctar de amora-preta sobre os índices dessa lipoproteína. Resultado similar foi observado por Ribeiro et al. (2004), os quais não verificaram influência da antocianina de uva sob os níveis plasmáticos de HDL-colesterol de coelhos saudáveis, pois os mesmos apresentaram índice inicial e final de HDL de 0,79 e 0,81 mmol.L⁻¹, respectivamente. Auger et al. (2002) também verificaram resultado parecido, pois ao avaliarem o efeito dos compostos fenólicos presentes no vinho tinto sob os lipídios plasmáticos de hamsters hipercolesterolêmicos, observaram não haver diferença de HDL entre os animais tratados e não-tratados com o extrato do vinho tinto.

A relação HDL/LDL é comumente calculada para avaliar o risco de doenças coronarianas. De acordo com relatos mencionados por Ho et al. (2003), elevada concentração de LDL-colesterol evidencia processos aterogênicos, enquanto que alto nível de HDL-colesterol tem efeito cardioprotetor. Neste estudo as relações HDL/LDL foram de 0,09, 4,50, 8,56, 2,29 e 4,00, para os grupos basal, Controle, B, C e CB (tab. 3.3), respectivamente. O aumento da relação HDL/LDL nos grupos B e

CB, indica influência benéfica do néctar de amora-preta tanto em animais normo como em hipercolesterolêmicos, pela diminuição dos índices de LDL-colesterol em ambos os grupos.

Em relação à análise de glicose no plasma dos animais (tab. 3.3), os grupos experimentais não diferiram estatisticamente, sendo que os quatro grupos avaliados apresentaram praticamente as mesmas taxas de glicose. Ribeiro et al. (2004) observaram que os níveis de glicose não foram afetados significativamente ao administrar antocianina de uva a coelhos saudáveis. Entretanto, Coffy (2008), ao administrar extrato de mirtilo (na dose de 250mg.Kg⁻¹ corpóreo do animal) em ratos hipercolesterolêmicos, verificou redução da glicose sanguínea em torno de 6,9%. De acordo com Jaekel (2008), fatores como concentração de substâncias bioativas no produto, quantidade de bebida administrada aos animais e duração do experimento, podem explicar as diferenças observadas entre um e outro estudo.

3.2.2 Peroxidação lipídica no soro e homogenatos de fígado, intestino delgado e cérebro

Na tab. 3.4 estão os resultados das análises de peroxidação lipídica realizada no soro, homogenatos de fígado, intestino delgado e cérebro de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.

Tabela 3.4 – Peroxidação lipídica (nmol MDA.mL⁻¹ de soro e homogenato) no soro e homogenatos de fígado, intestino delgado e cérebro de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

Determinações	DIETAS			
	Controle	B	C	CB
Soro	3,04±0,47 ^a	1,61±0,28 ^b	2,99±0,31 ^a	1,86±0,11 ^b
Homogenato de fígado	0,35±0,06 ^b	0,42±0,14 ^b	0,79±0,07 ^a	0,89±0,15 ^a
Homogenato de intestino delgado	0,43±0,12 ^b	0,37±0,10 ^b	0,57±0,12 ^a	0,40±0,08 ^b
Homogenato de cérebro	0,33±0,05 ^a	0,23±0,02 ^b	0,33±0,05 ^a	0,25±0,05 ^b

Os valores representam as médias de 7 repetições ± desvio padrão;

Letras distintas na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade (p≤0,05);

*Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

As avaliações de peroxidação lipídica realizadas no soro dos animais hipercolesterolêmicos mostraram que aqueles que consumiram o néctar de amora-preta (CB) foram significativamente (p≤0,05) menos afetados por processos

peroxidativos, fato que vem a comprovar o potencial antioxidante do produto em sistemas *in vivo*. O mesmo ocorreu em relação aos animais que ingeriram ração sem colesterol (Controle e B), sendo que os índices de malondialdeído (MDA) encontrados no soro desses foram praticamente os mesmos encontrados naqueles submetidos à dieta com colesterol, não sendo possível verificar a influência da hipercolesterolemia sobre as reações oxidativas. Após investigações realizadas, verificou-se que os elevados índices de MDA nos animais sem colesterol (Controle e B) podem ter ocorrido em função da degradação lipídica sofrida pela ração oferecida aos mesmos. A ração (Biotec[®]) contém em sua composição básica, segundo dados do fabricante, óleo de soja, farelo de soja, farelo de trigo, farelo de milho e farelo de gérmen de milho, sendo que algumas dessas substâncias apresentam apreciável conteúdo de lipídios insaturados que podem se oxidar quando submetidos a determinados tratamentos, como o aquecimento, liberando espécies reativas (radicais livres). A ração administrada aos animais de todos os grupos era acrescida de bitartarato de colina e por isso passava por um processo de secagem em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 50°C durante 30 minutos para sua incorporação. Baseado neste fato, realizou-se análise de TBARS na ração antes e após a adição de bitartarato de colina, de acordo com Costa et al. (2004). Na ração acrescida de colina, que sofria aquecimento, observou-se um índice de MDA de 2,59nmol.g⁻¹ de ração, 91% a mais que na ração original (1,35nmol MDA.g⁻¹ de ração), justificando os índices de MDA encontrados na ração padrão (sem colesterol).

As reduções nos níveis de malondialdeído (MDA) no soro dos animais submetidos à ingestão de néctar de amora-preta foram na ordem de 47% no grupo bebida sem colesterol (B) e de 37,8% no grupo bebida com colesterol (CB). Coffy (2008) observou redução no teor de MDA no soro de ratos hipercolesterolêmicos tratados diariamente com extrato de mirtilo nas concentrações de 250 e 500mg.Kg⁻¹ corpóreo de animal. De acordo com o autor a ingestão de 250mg.Kg⁻¹ promoveu uma redução de 50% nos índices de MDA, enquanto que a ingestão de 500mg.Kg⁻¹ implicou em uma redução de 62,5%. Um estudo realizado por Rho e Kim (2006) para avaliar o efeito de diferentes formulações de uva (uva inteira, bagaço e suco) na peroxidação lipídica no plasma de ratos mostrou que a incorporação de 2% de uva inteira, bagaço e suco na dieta promoveu uma diminuição de 10, 17 e 10%,

respectivamente, na incidência da peroxidação. A casca e o suco de uva são ricos em antocianinas, catequina, epicatequina e quercetina (O'BYRNE et al., 2002), o que torna a uva, assim com a amora-preta, um alimento rico em substâncias antioxidantes capazes de diminuir o efeito tóxico das espécies reativas de oxigênio.

Pesquisas têm demonstrado que os flavonóides inibem a peroxidação lipídica no estágio de iniciação por atuarem como antioxidante, eliminando ânions como superóxido e radicais hidroxilas. Tem sido proposto que flavonóides interrompem a reação em cadeia dos radicais livres, doando átomos de hidrogênio ao radical peroxila, e com isso formando um radical de flavonóide. O radical flavonóide, então, reage com o radical livre, terminando assim a propagação da reação em cadeia (COOK e SAMMAN, 1996).

Na avaliação da peroxidação lipídica nos órgãos dos animais (tab. 3.4), o cérebro foi aquele onde se pôde melhor verificar o efeito antioxidante do néctar de amora-preta. Os resultados apresentaram-se diferentes estatisticamente ($p \leq 0,05$) em ambos os grupos experimentais (com e sem colesterol), sendo que os grupos com a bebida (B e CB) apresentaram menores valores de MDA quando comparados aos seus controles (Controle e C). Uma maior facilidade na determinação dos produtos da oxidação no cérebro deve-se ao fato de esse ser um dos órgãos mais susceptíveis ao dano oxidativo, principalmente em função da alta utilização de oxigênio, e dos altos níveis de lipídios insaturados e metais de transição (como ferro) presente, além de ser um órgão com grande deficiência de mecanismos de defesa antioxidante (REITER, 1995).

No fígado, ao compararem-se os grupos B e CB com seus respectivos controles (Controle e C), foi observado não haver diferença significativa entre os resultados, e com isso não foi possível verificar o efeito benéfico do néctar de amora. Entretanto, ao relacionar-se os grupos Controle e Colesterol é possível verificar significativa diferença ($p \leq 0,05$) entre os mesmos, com um índice de peroxidação lipídica quase 2 vezes maior no grupo que ingeriu ração acrescida de colesterol, corroborando evidências clínicas e experimentais de que a hipercolesterolemia está associada ao aumento do estresse oxidativo (VIOLI et al., 2004), fato que não pôde ser verificado no soro dos animais. Entre os órgãos avaliados, o fígado foi o que apresentou maior índice de peroxidação lipídica nos

grupos colesterol (C e CB), provavelmente em função do maior acúmulo de colesterol total ocasionado nos animais desses grupos (tab. 3.3), que se deposita mais intensamente no fígado e por isso causa maiores lesões a esse órgão. O fato de o fígado estar relacionado ao depósito de colesterol pode ser comprovado através dos pesos dos fígados relatados na tab. 3.2, onde se observa que os grupos colesterol (C e CB) apresentam fígados mais pesados. A Fig. 3.3 compara os teores de peroxidação lipídica no fígado com o peso do mesmo, mostrando que nos grupos colesterol (C e CB), onde o depósito de gordura no fígado é maior, devido à dieta hipercolesterolêmica, a peroxidação lipídica também foi maior.

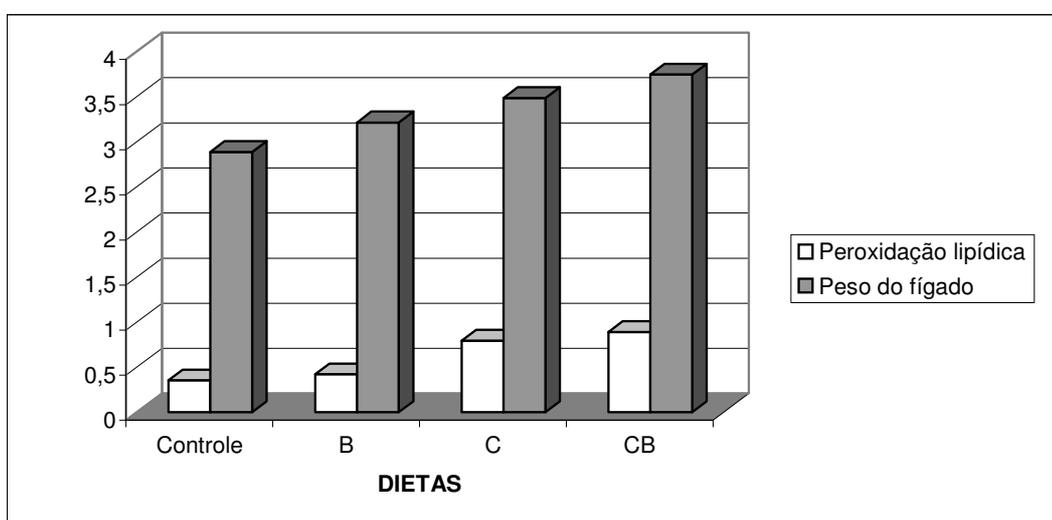


Figura 3.3 – Teores de peroxidação lipídica (nmol MDA.mL⁻¹ de homogenato) no fígado e peso (g) do mesmo em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.

*Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

Comportamento similar ao observado no fígado ocorreu no intestino delgado, onde a peroxidação lipídica não apresentou resultados diferentes estatisticamente entre os grupos sem colesterol (Controle e B), mas mostrou-se diferente entre os grupos colesterol (C e CB), ficando claro, neste órgão, o efeito antioxidante da bebida.

A menor capacidade de inibição da peroxidação lipídica no fígado e intestino delgado pode ser decorrente de uma menor quantidade de substâncias ativas presentes nestes órgãos, do que propriamente menor atividade das mesmas. Pouco é conhecido sobre a absorção, biodistribuição e metabolismo dos flavonóides em concentrações normalmente ingeridas na dieta (cerca de 60 a 106mg.dia⁻¹ no que concerne à população brasileira) (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004). Um estudo mostrou que menos de 1% da quercetina é absorvido no intestino, sendo que mais de 50% da dose ingerida é degradada pela microbiota colônica, enquanto o restante é eliminado pelas fezes (DESCHNER, 1992), restando um percentual muito pequeno para atuar na proteção dos diversos órgãos do organismo. Portanto, a pequena absorção de alguns polifenóis após a ingestão pode justificar uma menor inibição da peroxidação lipídica em determinados órgãos.

Um maior efeito antioxidante evidenciado no cérebro também pode estar relacionado com a solubilidade dos compostos fenólicos. Heo e Lee (2004) comprovaram que o efeito protetor de quercetina foi superior ao da vitamina C, ao prevenir o efeito de redução da glutathione e proteger o cérebro do estresse oxidativo induzido por neurotoxicidade, devido às propriedades estruturais e benefícios fisiológicos da quercetina. Como a permeabilidade cerebral é controlada por características psicoquímicas, como hidrofobicidade ou lipofilicidade, a quercetina pode entrar em regiões cerebrais beneficiando-se de funções antioxidantes e biológicas, que protegem da citotoxicidade induzida por radicais livres (HEO e LEE, 2004).

3.3 Avaliações histopatológicas

Dentre os órgãos avaliados histopatologicamente (fígado, coração, intestino grosso, pâncreas, baço, rim, pulmões e aorta) o fígado foi o único que apresentou alterações.

O acúmulo de lipídios nos tecidos, com exceção do tecido adiposo, impede o metabolismo celular normal, comprometendo a viabilidade das células. O dano induzido pelos ácidos graxos denomina-se lipotoxicidade, causando esteatose hepática, referida como doença do fígado gorduroso não alcoólico. Este termo

abrange uma série de doenças, desde um simples acúmulo de triacilglicerídeos nos órgãos hepáticos a esteatose hepática com inflamação, fibrose e cirrose (FROTA, 2007; MACHADO, 2007; TORRES; TORRE-VILLALVAZO; TOVAR, 2006).

Os animais dos grupos normocolesterolêmicos Controle e B (este último além da ração recebia também o néctar de amora-preta) não apresentaram qualquer alteração no fígado. Entretanto, o fígado dos animais alimentados com dieta hipercolesterolêmica (C e CB, este último também alimentado com néctar de amora-preta) apresentou esteatose, consequência do percentual de colesterol adicionado à dieta, o qual ocasiona aporte excessivo de ácidos graxos no fígado. A maioria das amostras do grupo C apresentou lesões difusas por todo fígado, discretas e com predomínio de grau 1, com exceção de uma amostra que apresentou lesão difusa e microvacuolar de grau 2. Nas amostras do grupo CB também predominaram as lesões difusas e discretas, havendo também predomínio de lesão de grau 1, porém em uma amostra a esteatose ficou restrita a regiões lobulares específicas (cetrolobular) e em outra se apresentou aleatória (macrovacuolar). O estudo histopatológico não indicou influência benéfica do néctar de amora-preta nas amostras de fígado do grupo CB, uma vez que o grau das lesões provocadas foi o mesmo que no grupo C (grupo colesterol que não ingeriu a bebida). Entretanto, além do menor teor de colesterol adicionado à dieta, quando comparado a outros estudos, foi possível verificar uma possível influência do bitartarato de colina adicionado à ração, uma vez que os baixos índices de esteatose hepática encontrados podem estar relacionados à presença dessa substância, que por sua vez é capaz de aumentar o metabolismo dos lipídios. Jaekel (2008) e Machado (2007) evidenciaram em seus experimentos (hamsters machos submetidos à dieta com 0,2% de colesterol) incidência de esteatose hepática de grau 2 e 4, respectivamente, nos animais avaliados, cuja dieta não foi adicionada de bitartarato de colina.

Nos rins, pulmões, coração e aorta não foram encontradas alterações em nenhum grupo experimental. As amostras de coração dos grupos estudados não apresentaram alterações endoteliais ou presença de depósitos ateromatosos (placas de colesterol), ao contrário do que se esperava, já que os grupos colesterol (C e CB) apresentaram esteatose ocasionada pelo excesso de colesterol na dieta. O mesmo comportamento foi observado por Jaekel (2008) e Machado (2007), onde nas aortas

dos grupos colesterol também não foi encontrado depósitos ateromatosos. Os animais de todos os grupos apresentaram o intestino dentro da normalidade e em relação aos demais órgãos (pâncreas e baço), os mesmos não apresentaram alterações histopatológicas.

3.4 Avaliação das fezes

Os resultados das avaliações de lipídios totais nas fezes de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias encontram-se descritos na tab. 3.5.

Tabela 3.5 – Teor de lipídios totais (%) nas fezes de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

DIETAS*	Lipídios totais
Controle	4,20±0,28 ^{ab}
B	4,57±0,53 ^a
C	4,17±0,23 ^{ab}
CB	3,92±0,39 ^b

Os valores representam as médias de 7 animais x 3 repetições de análise ± desvio padrão; Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

*Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

Os grupos aos quais foi administrada a bebida (B e CB) diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si, em relação ao teor de lipídios nas fezes, contudo ambos não diferiram dos demais grupos. Em função da ação que determinados compostos fenólicos exercem sobre o metabolismo lipídico, aumentando a excreção de sais biliares nas fezes (MACDONALD; MADER; BUSSARD, 1983), o comportamento sugerido (embora não significativo) pela resposta do grupo que ingeriu o néctar (B) comparativamente ao Controle, com maior quantidade de lipídios excretados nas fezes dos animais, era esperado. Entretanto, não se verificou a mesma tendência de efeito do produto sobre a excreta de lipídios quando observados os grupos alimentados com ração acrescida de colesterol sem (C) e com a bebida (CB). Jaekel (2008) e Machado (2007), ao trabalharem com hamsters machos submetidos à dieta hipercolesterolêmica (0,2% de colesterol), observaram

diferença na quantidade de lipídios excretados nas fezes dos grupos controle e colesterol, sendo maior naqueles que ingeriram colesterol, 1,46 e 1,99%, respectivamente, segundo Jaekel (2008); e 1,15 e 3,62%, respectivamente, segundo Machado (2007).

O colesterol do organismo pode ser derivado de duas fontes: síntese celular (colesterol endógeno: 70%) e da dieta (colesterol exógeno: 30%), sendo que quando a dieta fornece colesterol suficiente, a síntese é inibida. O colesterol proveniente da dieta chega ao fígado a partir de quilomícrons remanescentes e daí provoca a inibição da síntese da enzima HMG-CoA redutase (3-hidroxi, 3-metil glutaril CoA redutase), diminuindo com isto a síntese endógena. Em virtude de ser insolúvel em água, e conseqüentemente no sangue, para ser transportado na corrente sanguínea o colesterol necessita ligar-se a algumas proteínas e lipídeos, formando um complexo denominado lipoproteína. A LDL (lipoproteína de baixa densidade) transporta o colesterol do sítio de síntese (fígado) até as células de vários outros tecidos e a HDL (lipoproteína de alta densidade) transporta o excesso de colesterol dos tecidos de volta para o fígado. No fígado o colesterol é degradado podendo ser empregado na síntese de sais biliares, hormônios sexuais, corticosteróides e vitamina D, ou eliminado nas fezes (CHENG et al., 1996; VIEIRA et al., 1995).

O fato de nesse estudo não se ter percebido diferença entre o percentual de lipídios excretados nos grupos controle (com e sem colesterol), mesmo com a inserção de uma dieta hipercolesterolêmica, pode ser devido a uma maior quantidade de colesterol retida no fígado dos animais do grupo colesterol, não sendo eliminada nas fezes. Tal situação pode ser elucidada através da análise visual dos fígados (Fig. 3.4) onde se verifica elevado grau de esteatose hepática nos animais hipercolesterolêmicos.

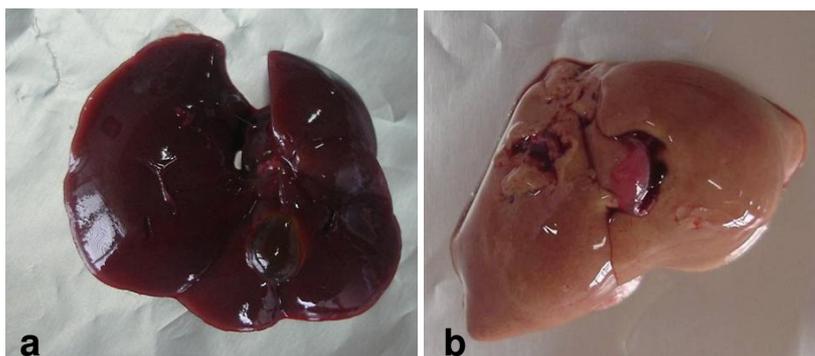


Figura 3.4 – Coloração do fígado de hamsters submetidos a diferentes dietas durante 98 dias: a) ração comercial sem colesterol (grupo Controle) e b) ração comercial acrescida de 0,1% de colesterol (grupo C).

3.5 Avaliação da gordura corporal

Os resultados da avaliação do teor de gordura corporal em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias encontram-se descritos na tab. 3.6.

Tabela 3.6 – Teor de gordura corporal (g) em hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

DIETAS**	Gordura corporal*
Controle	3,54±0,54 ^a
B	4,70±1,26 ^a
C	3,54±0,72 ^a
CB	5,12±1,97 ^a

Os valores representam as médias de 7 repetições ± desvio padrão;

Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

*Gordura corporal: soma das gorduras mesentérica, renal e inguinal;

**Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

O teor de gordura corporal dos animais não variou estatisticamente ($p \leq 0,05$), não havendo diferença entre a quantidade de gordura formada nos grupos Controle e Colesterol (C), predizendo que possivelmente o teor de colesterol acrescentado à dieta (0,1%) não tenha sido suficiente para promover acúmulo de gordura mais intenso naqueles animais que ingeriram a ração acrescida do composto. Entretanto, mesmo não significativos, os grupos que ingeriram o néctar de amora-preta (B e

CB) apresentaram ligeiro maior acúmulo de gordura no organismo, o que pode ter ocorrido em função do conteúdo de açúcar presente na bebida. No grupo CB (colesterol + bebida) verifica-se que, além da bebida, a dieta hipercolesterolêmica pode também ter influenciado na quantidade de gordura formada, pois o teor da mesma foi maior nesses animais quando comparados ao grupo B (ração sem colesterol + bebida). Paralelamente, os grupos que apresentaram maior teor de gordura corporal (B e CB), foram aqueles que apresentaram também maior ganho de peso durante o experimento (tab. 3.2).

Vechiatto e Paitner (2007) verificaram aumento no teor de gordura corporal em ratos machos da raça Wistar alimentados com ração comercial acrescentada de 30% de banha. O grupo alimentado com essa ração, após 90 dias de experimento, apresentou teor médio de gordura corporal de 29,15g, três vezes mais que aquele alimentado com ração sem banha (9,51g). No trabalho desses autores os animais com maior formação de gordura corporal também foram aqueles com maior ganho de peso. Hoffmann (2007), ao trabalhar com ratos Wistar machos submetidos à dieta hiperlipídica (25% de gordura animal), observou resultados similares aos do estudo de Vechiatto e Paitner (2007), onde os animais hiperlipídicos, após 30 dias de experimento, apresentaram um teor de gordura corporal 52% maior que os normolipídicos.

Em relação ao organismo humano, a taxa de gordura corporal aceitável é de aproximadamente 20 a 26% do peso corpóreo, para o sexo feminino, e de 14 a 21% para o sexo masculino (GUEDES e GUEDES, 1998), sendo que quando essas taxas são ultrapassadas o indivíduo passa a pertencer aos chamados grupos de risco à saúde com probabilidade de desenvolver doenças como diabetes, hipertensão arterial, doenças coronarianas e etc. (JUNIOR, 2006).

Neste estudo a taxa de gordura corporal nos animais do grupo Controle (ração sem colesterol) foi de 3,57% do peso corpóreo; do grupo B (ração sem colesterol + bebida) de 4,24%; do grupo C (ração com colesterol) de 3,48%; e do grupo CB (ração com colesterol+ bebida) de 4,78% do peso corpóreo. Embora os dados não possam ser comparados equitativamente àqueles citados como referência para humanos, verifica-se que, teoricamente, consideradas as diferenças existentes entre o metabolismo dos mesmos, as taxas de gordura corporal

estabelecida nos animais estudados ficaram abaixo da zona de risco. Assim, o resultado indica que estes animais não estariam propensos ao desenvolvimento de doenças como as citadas no parágrafo anterior.

Os valores de gordura mesentérica, inguinal e renal dos animais de cada grupo experimental em relação ao peso corporal dos mesmos, estão na Fig. 3.5.

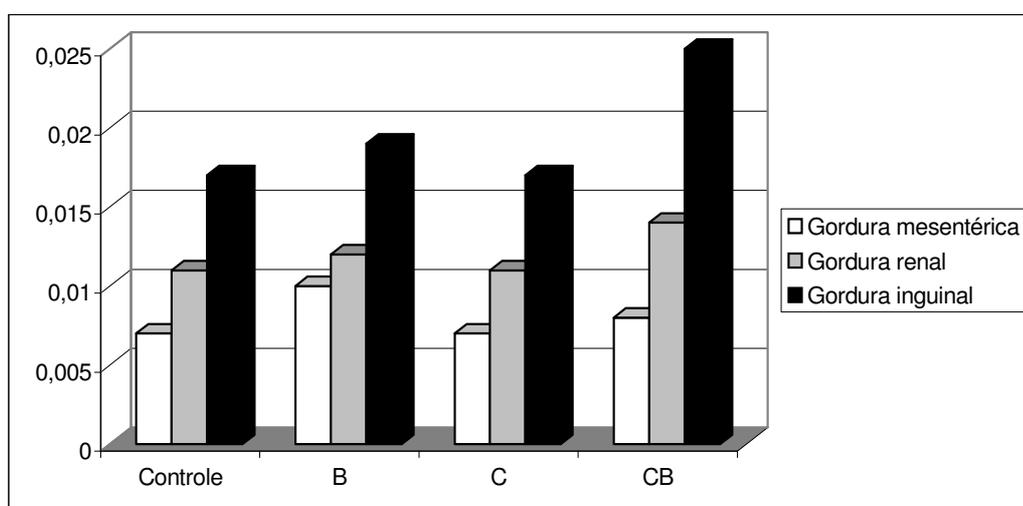


Figura 3.5 – Peso (g) da gordura mesentérica, renal e inguinal em relação ao peso corporal de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias.

*Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

A gordura mesentérica é a gordura circundante em torno do sistema digestivo, enquanto que a gordura renal é aquela que circunda em volta dos rins (BUENO et al., 2000). A gordura inguinal se forma na região localizada entre a última costela do animal e a coxa, abrangendo a parte inferior da região abdominal (GONÇALVES et al., 2005).

Em relação aos tipos de gordura avaliados observa-se, através da Fig. 3.5, que, em todos os grupos, a região inguinal foi aquela com maior formação de gordura, seguida da renal e mesentérica.

Na tab. 3.7 estão os dados das medidas antropométricas (comprimento, circunferência do abdômen e peso) de hamsters submetidos a diferentes dietas, após 98 dias de experimento, empregadas no cálculo do Índice de Conicidade.

Tabela 3.7 – Medidas antropométricas e Índice de Conicidade de hamsters submetidos a diferentes dietas experimentais durante 98 dias

DIETAS*	Comprimento (m)	Circunferência do abdômen (m)	Peso (Kg)	Índice de Conicidade (C)
Controle	0,16±0,005	0,12±0,006	0,099±4,53	1,42±0,079 ^a
B	0,16±0,010	0,13±0,006	0,110±18,81	1,41±0,052 ^a
C	0,16±0,003	0,13±0,002	0,101±7,17	1,46±0,029 ^a
CB	0,16±0,007	0,13±0,005	0,107±12,37	1,44±0,038 ^a

Os valores representam as médias de 7 repetições ± desvio padrão;

Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$);

Comprimento: medida vértice-cóccix;

*Controle: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina; B: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina + 5mL de néctar de amora-preta; C: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol; CB: ração comercial acrescida de 0,3% de bitartarato de colina e 0,1% de colesterol + 5mL de néctar de amora-preta.

A obesidade abdominal, definida pelo aumento de tecido adiposo na região abdominal, é considerada um fator de risco para diversas doenças. O acúmulo de tecido adiposo na região abdominal é reconhecido, principalmente, como fator de risco para doenças cardiovasculares, diabetes e síndrome metabólica. Assim, estudos têm apontado a circunferência abdominal (CA) como a medida antropométrica melhor correlacionada à quantidade de tecido adiposo no abdômen (DAMASCENA; NETO; PEREIRA, 2008).

O índice de Conicidade, também conhecido como Índice C, é uma estimativa antropométrica que fornece informações sobre o perfil de distribuição da gordura corporal. Baseia-se no pressuposto de que o perfil morfológico do corpo humano, ao apresentar maior concentração de gordura na região central, apresenta um formato parecido com um duplo cone com uma base comum, ao passo que, ao apresentar menores quantidades de gordura na região central do corpo, apresenta aparência similar a um cilindro (VALDEZ, 1991). No seu cálculo são envolvidas as variáveis circunferência do abdômen e estatura corporal (comprimento), expressas em metros; e peso em kilograma, conforme a Fig. 3.6:

$$\text{Índice C} = \frac{\text{Circunferência-Cintura (m)}}{0.109 \sqrt{\frac{\text{Peso Corporal (kg)}}{\text{Estatura (m)}}}}$$

Figura 3.6 – Fórmula matemática para o cálculo do índice de conicidade (índice C).

Fonte: PITANGA e LESSA, 2005, p.27.

A variação do índice C é diferente para homens e mulheres. Segundo Pitanga e Lessa (2005), para homens são aceitáveis valores que variam entre 1,01 e 1,45, e para mulheres valores entre 0,59 e 1,63. Índice C dentro da faixa recomendada indica baixo risco para o aparecimento e o desenvolvimento de disfunções cardiovasculares e metabólicas. Em contrapartida, valores acima das taxas mencionadas servem como indicativo de risco para o aparecimento e o desenvolvimento de disfunções cardiovasculares e metabólicas.

De acordo com os resultados de índice C apresentados na tab. 3.7 verifica-se não haver diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os diferentes grupos experimentais avaliados nesse estudo. Considerando que não existe ainda um parâmetro estabelecido deste índice para animais, mas com base nos dados relatados no parágrafo acima para humanos, mais especificamente para homens, percebe-se que os hamsters desse estudo (todos machos) encontravam-se próximos às zonas de risco para o desenvolvimento de doenças degenerativas, condição que, segundo o índice C, caracteriza-se pela quantidade excessiva de gordura depositada no abdômen.

4 CONCLUSÃO

O néctar de amora-preta apresentou efeito redutor sobre os níveis séricos de triacilglicerídeos, colesterol total e LDL-colesterol, não mostrando influencia sob as concentrações de HDL em hamsters normo e hipercolesterolêmicos. Do mesmo modo, foi capaz de diminuir a iniciação das reações de peroxidação lipídica, comprovando seu potencial antioxidante em sistemas *in vivo*. O produto não mostrou interferência quanto à glicose sanguínea dos animais estudados.

Quanto às demais avaliações, o néctar promoveu aumento de peso nos animais que o ingeriram e, ao mesmo tempo, promoveu ligeiro aumento do teor de gordura corporal. Entretanto, os mesmos animais não mostraram alterações de comprimento e circunferência de abdômen quando comparados àqueles que não ingeriram o produto. Não foi possível verificar o efeito do néctar de amora-preta sob os índices de esteatose hepática, uma vez que o grau de lesão causada no fígado dos animais do grupo ração com colesterol + bebida (CB) foi praticamente o mesmo do grupo colesterol sem bebida (C).

5 REFERÊNCIAS

ARABBI, P.R.; GENOVESE, N.I.; LAJOLO, F.M. Flavonoids in vegetables foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.5, p.1124-31, 2004.

AUGER, C.; CAPORICCIO, B.; LANDRAULT, N.; TEISSEDE, P.L.; LAURENT, C.; CROS, G.R.; BESANÇON, P.; ROUANET, J. Red wine phenolic compounds reduce plasma lipids and apolipoprotein B and prevent early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic golden syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). **The Journal of Nutrition**, v.132, p.1207-1213, 2002.

BEHNER, O.A.; TOLOSA, E.M.C; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para a histologia normal e patológica**. São Paulo: EDART, 1976. 239p.

BLAIR, R.M.; APPT, S.E.; BENNETAU-PELISSERO, C.; CLARKSON, T.B. ; ANTHONY, M.S. ; LAMOTHE, V. ; POTTER, S.M. Dietary soy and soy isoflavones have gender-specific effects on plasma lipids and isoflavones in Golden Syrian F1B hybrid hamsters. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3585-3591, 2002.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BUENO, M.S.; CUNHA, E.A. da; SANTOS, L.E. dos; RODA, D.S.; LEINZ, F.F. Características de carcaças de cordeiros Suffolk abatidos em diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1803-1810, 2000.

CARDOSO, S.M.G. **Efeitos da polpa de laranja sobre lipídeos plasmáticos, capacidade antioxidante e parâmetros cardiovasculares em hamsters hipercolesterolêmicos**. 2004. 108f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular – área de Fisiologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CHENG, W.L.; HOLMES-McNARY, M.Q.; MAR, M.H.; LIEN, E.L.; ZEISEL, S.H. Bioavailabilit of choline and choline esters from milk in rat pups. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, n.8, p.457-464, 1996.

CHEREM, A.R.; TRAMONTE, V.L.C.G.; FETT, R.; van DOKKUM, W. Efeito da casca da berinjela (*Solanum melongena*) sobre as concentrações plasmáticas de triglicerídeos, colesterol total e frações lipídicas em cobaias (*Cavia porcellus*) hiperlipidêmicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.1, p.51-60, 2007.

COFFY, S.P. **Nível sérico de NO e TBA-RS em ratos Wistar submetidos à dieta hipercolesterolêmica tratados com extratos de diferentes espécies de *Vaccinium myrtillus***. 2008. 25f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em

Farmácia) – Universidade regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim.

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, n.2, p.66-76, 1996.

CORDOVA, C.M.M. de; SCHNEIDER, C.R.; JUTTEL, I.D.; CORDOVA, M.M. de. Avaliação da dosagem direta do colesterol-LDL em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.83, n.6, p.476-481, 2004.

COSTA, C.S.; ALFARO, A.; ANTUNEZ, H.C.S.; CARRO, S.B.T.; KUHN, C.; SILVEIRA, A.; MÁLAGA, F.; BESSA, L.; LÜDTKE, C.; SILVA, W.P.; SOARES, G.J.D. Vácuo no controle da oxidação de carne bovina moída irradiada. In: Congresso de Iniciação Científica, 13., 2004, Pelotas. **Anais do...** Pelotas, 2004.

DAMASCENA, L.L.; NETO, N.P.; PEREIRA, V.A. Correlação entre obesidade abdominal, IMC e risco cardiovascular. In: Encontro de Extensão e XI Encontro de Iniciação a Docência, 10., 2008, João Pessoa. **Anais do...** João Pessoa, 2008.

DESCHNER, E.E. Dietary quercetin and rutin: Inhibitors of experimental colonic neoplasia. In: **Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II**. Huang, M., Ho, C. and Lee, C. ACS, Washington, p. 265-268, 1992.

FROTA, K.M.G. **Efeito do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e da proteína isolada no metabolismo lipídico em hamsters hipercolesterolêmicos**. 2007. 136f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GIRIBELA, A.H.G **Avaliação da influência da menopausa no tamanho das partículas da HDL e na sua capacidade de receber lipídios de uma nanoemulsão semelhante a LDL**. 2007. 83f. Tese (Doutorado em Obstetrícia e Ginecologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GONÇALVES, W.L.S.; CIRQUEIRA, J.P.; SOARES, L.S.; BISSOLI, N.S.; MOYSÉS, M.R. Utilização da terapia ultra-sônica de baixa intensidade na redução da lipodistrofia ginecóide: uma terapia segura ou risco cardiovascular transitório – Um estudo pré-clínico. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.80 (Supl. 3), S.352-359, 2005.

GUEDES, D.P.; GUEDES, J. Body fat distribution, blood pressure and plasma lipids and lipoprotein levels. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.70, p.93-98, 1998.

HEO, H.J.; LEE, C.Y. Protective effects of quercetin and vitamina C against oxidative stress-induced neurodegeneration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.25, p.7514-7517, 2004.

HO, H.M.; LEUNG, L.K.; CHAN, F.L.; HUANG, Y.; CHEN, Z.Y. Soy leaf lowers the ratio of non-HDL to HDL cholesterol in hamsters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4554-4558, 2003.

HOFFMANN, J. **Influência da berinjela (*Solanum melongena*) no metabolismo de ratos Wistar submetidos a uma dieta hiperlipídica**. 2007. 22f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel.

IKEDA, I.; IMASATO, Y.; SASAKI, E.; NAKAYAMA, M.; NAGAO, H.; TAKEO, T.; YAYABE, F.; SUGANO, M. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1127, p.141-146, 1992.

JAEKEL, L.Z. **Bebida funcional com extratos de soja e de arroz e sua influência no colesterol e glicemia**. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

JUNIOR, W.B. **Avaliação da composição corporal de ratos machos após a administração de fosfatidilcolina**. 2006. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos.

KOK, F.J.; VAN POPPEL, G.; MELSE, J.; VERHEUL, E.; SHOUTEN, E.G.; KRUYSEN D.H.C.M.; HOFFMAN, A. Do antioxidants and polyunsaturated fatty acids have a combined association with coronary atherosclerosis? **Atherosclerosis**, v.31, p.85-90, 1991.

LUCA, R.R.; ALEXANDRE, S.R.; MARQUES, T.; SOUSA, N.L.; MERUSSE, J.L.B.; NEVES, S.P. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2.ed. São Paulo: Winner Graph, 1996, 259p.

MACDONALD, I.A.; MADER, J.A.; BUSSARD, R.G. The role of rutin and quercetin in stimulating flavonol glycosidase by cultured cell-free microbial preparation of human feces and saliva. **Mutation Research**, v.122, n.34, p.95-102, 1983.

MACHADO, D.F.; FERREIRA, C.L.L.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, T.T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.270-275, 2003.

MACHADO, M.R.G. **Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional**. 2007. 101f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MARTINELLO, F. **Avaliação da atividade biológica do extrato hidroalcoólico de *Tamarindus indica* L. sobre o metabolismo lipídico e na carcinogênese coloretal em hamster**. 2006. 153f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à

Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica**. São Paulo: Editora Atheneu, 9. ed. 2002, p.276-278.

NESS, A.R.; POWLES, J.W. Fruits and vegetables, and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology**, v.26, p.1-13, 1997.

NISTOR, A.; BULLA, A.; FILIP, D.A.; RADU, A. The hyperlipidemic hamster as a model of experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v.68, p.159-173, 1987.

O'BYRNE, D.J.; DEVARAJ, S.; GRUNDY, S.M.; JIALAL, I. Comparison of the antioxidant effects of concord grape juice flavonoids and α -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.1367-1374, 2002.

OLIVEIRA, T.T. de; GOMES, S.M.; NAGEM, T.J.; COSTA, N.M.B.; SECOM, P.R. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.45-51, 2002.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2005, 95p.

PITANGA, F.J.G.; LESSA, I. Indicadores antropométricos de obesidade como instrumento de triagem para risco coronariano elevado em adultos na cidade de Salvador – Bahia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.1, p.26-31, 2005.

REITER, R.J. Oxidative processes and oxidative defense mechanism in the aging brain. **FASEB Journal**, v.9, p.526-533, 1995.

RHO, K.A.; KIM, M.K. Effects of different grape formulations on antioxidative capacity, lipid peroxidation and oxidative DNA damage in aged rats. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, v.52, p.33-46, 2006.

RIBEIRO, J.N.; OLIVEIRA, T.T. de; NAGEM, T.J.; FLORES, A.V. Avaliação da toxicidade da antocianina de uva, através da quantificação espectrofotométrica de constituintes do sangue e medida de massa corporal de coelhos saudáveis. **Revista Analytica**, n.12, p.50-55, 2004.

RODRIGUES, R. da S. **Caracterização de extratos de soja obtidos de grãos, farinha integral e isolado protéico visando a formulação e avaliação biológica (em coelhos) de bebida funcional à base de soja e polpa de pêsego**. 2003. 177f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SAKAKIBARA, H.; HONDA, Y.; NAKAGAWA, S.; ASHIDA, H.; KANAZAWA, K. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.571-581, 2003.

SILVA, R.R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S.; ALBINO, L.F.T.; ALMEIDA, M.R.; MORAES, G.H.K.; PINTO, J.G. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.51, n.3, p.258-264, 2001.

SIMA, A.; STANCU, C.; CONSTANTINESCU, E.; OLEGEANU, L.; SIMIONESCU, M. The hyperlipemic hamster - a model for testing the antiatherogenic effect of amlodipine. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v.5, p.153-162, 2001.

SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M. Sterol synthesis *in vivo* in 18 tissues of the squirrel monkey, guinea pig, rabbit, hamster and rat. **Journal of Lipid Research**, v.24, p.303-315, 1983.

SUCKLING, K.E.; BENSON, G.M.; BOND, B.; GEE, A.; GLEN, A.; HAYNES, C.; JACKSON, B. Cholesterol lowering and bile acid excretion in the hamster with cholestyramine treatment. **Atherosclerosis**, v.89, p.183-190, 1991.

TORRES, N.; TORRE-VILLALVAZO, I.; TOVAR, R. Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, p.365-373, 2006.

VALDEZ, R. A simple model-based index of abdominal adiposity. **Journal of Clinical Epidemiology**, v.44, n.9, p.955-956, 1991.

VECHIATTO, C.D.; PAITNER, J.R.T. **Efeito dos flavonóides presentes no vinho tinto na redução do peso corpóreo, gordura peritoneal, ingestão alimentar e colesterol em ratos da raça Wistar**. 2007. 11f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição) – Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel.

VIEIRA, E.C.; FIGUEIREDO, E.A.; ALVAREZ-LEITE, J.I.; GOMEZ, M.V. **Química fisiológica**. Belo Horizonte: Editora Atheneu. 1995. 2.ed. 414p.

VILELA, A.L.M. Sistema digestório: o colesterol. Disponível em: <<http://www.afh.bio.br>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

VIOLI, F.; LOFFREDO, L.; MUSELLA, L.; MARCOCCIA, A. Should antioxidant status be considered in interventional trials with antioxidants? **Heart**, v.90, p.598-602, 2004.

ZEISEL, S.H.; BLUSZTAJN, J.K. Choline and human nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v.14, p.269-296, 1994.

YUGARANI, T.; TAN, B.K.H.; TEH, M.; DAS, N.P. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. **Lipids**, v.27, n.3, p.265-290, 1992.

WINTERBOURN, C.C.; GUTTERIDGE, J.M.; HALLIWELL, B. Doxorubicin-dependent lipid peroxidation at low partial pressures of O₂. **Journal of Free Radicals in Biology e Medicine**, v.1, n.1, p.43-49, 1985.

WITZTUM, J.L. Intensive drug therapy of hypercholesterolemia. **American Heart Journal**, v.113, n.2, p.603-609, 1987.

6 ANEXO 1



Pelotas, 07 de julho de 2008.

De: Prof. Dr. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Pres. da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Prof. Jorge Adolfo Silva

PARECER

A CEEA analisou o projeto de pesquisa intitulado “**Atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de néctar de amora-preta (*Rubus spp*) Cv. Tupy**” protocolo (01/08) e, é **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com o objetivo proposto.

Atenciosamente

Prof. Francisco Augusto Burkert Del Pino
Presidente da CEEA

7 CONCLUSÕES GERAIS

As características físico-químicas e o potencial antioxidante do néctar de amora-preta mantiveram-se praticamente estáveis ao longo dos 90 dias de armazenamento congelado. As alterações mais expressivas acarretadas no néctar ocorreram aos 75 dias de armazenamento, onde se observou um leve declínio nos teores totais de compostos fenólicos, antocianinas e ácido ascórbico. O trabalho mostrou haver correlação significativa ($p \leq 0,05$) entre as variáveis compostos fenólicos totais, antocianinas totais e ácido ascórbico com a atividade antioxidante no néctar de amora-preta, evidenciando tendência a aumentar a atividade antioxidante do mesmo conforme o aumento do teor dessas substâncias. Pode-se verificar também que a não utilização de tratamento térmico (pasteurização) durante a elaboração do néctar e a escolha do congelamento (-18°C) como método de conservação, foram critérios adotados que implicaram em menores taxas de degradação das substâncias bioativas presentes na fruta que originou o produto (amora-preta).

O néctar de amora-preta foi capaz de interferir no perfil lipídico de hamsters normo e hipercolesterolêmicos, reduzindo as concentrações de colesterol sérico, LDL-colesterol e triacilglicerídeos. O produto não influenciou nos teores de HDL e na glicose sanguínea dos animais que o ingeriram; entretanto, esses mesmos animais apresentaram menores índices de peroxidação lipídica no sangue e nos órgãos, fato que contribui para comprovar o potencial antioxidante do produto, não somente em sistemas *in vitro*, como também *in vivo*. A ingestão do néctar promoveu ganho de peso nos animais que o ingeriram, independente da dieta administrada; entretanto, a dieta e a ingestão do néctar não influenciaram no valor do coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais estudados. As dietas hipercolesterolêmicas, com e sem a inclusão do néctar, causaram aumento de peso no fígado dos animais e o grau de esteatose hepática (1) foi praticamente o mesmo em ambos os grupos colesterol (C e CB). Os animais que apresentaram maior excreção de lipídios nas fezes foram aqueles que receberam dieta sem colesterol e com néctar de amora.