



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAROLINA KATO PRADO

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
CAPACIDADES REDUTORA E ANTIOXIDANTE DO CAMU-
CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* (H. B. K.) MCVAUGH) E DOS
SEUS EFEITOS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS COM
SÍNDROME METABÓLICA**

Londrina
2018

CAROLINA KATO PRADO

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
CAPACIDADES REDUTORA E ANTIOXIDANTE DO CAMU-
CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* (H. B. K.) MCVAUGH) E DOS
SEUS EFEITOS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS COM
SÍNDROME METABÓLICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma Aparecida Spinosa

Co-orientadora: Profa. Dra. Andréa Name Colado Simão

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Prado, Carolina Kato.

Avaliação da composição físico-química, capacidades redutora e antioxidante do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) e dos seus efeitos metabólicos em indivíduos com síndrome metabólica / Carolina Kato Prado. - Londrina, 2018. 53 f.

Orientador: Wilma Aparecida Spinosa.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2018. Inclui bibliografia.

1. Ácido fenólico - Tese. 2. Antioxidantes - Tese. 3. Síndrome metabólica - Tese. 4. Metabolismo - Tese. I. Spinosa, Wilma Aparecida. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. III. Título.

CAROLINA KATO PRADO

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, CAPACIDADES REDUTORA E ANTIOXIDANTE DO CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* (H. B. K.) MCVAUGH) E DOS SEUS EFEITOS METABÓLICOS EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME METABÓLICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Wilma Aparecida Spinoso
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Marcell Alysson Bastiti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Patrícia de Miranda Brusantin
Universidade Paulista – UNIP

Profa. Dra. Alessandra Bosso
Universidade Norte do Paraná – UNOPAR

Profa. Dra. Ana Paula Tardivo
Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL

Londrina, 17 de outubro de 2018.

Dedico esta tese à minha filha, razão
da minha motivação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelo cuidado constante e por ser meu amparo principalmente nos momentos difíceis.

À Professora Lúcia por aceitar me orientar e ter iniciado essa trajetória comigo.

À Professora Wilma pela orientação ainda que no final do doutorado. Agradeço por aceitar esse desafio e pela solidariedade.

À Professora Andréa por co-orientar este trabalho e compreender as minhas dificuldades. Obrigada por me receber, me acolher e me auxiliar com este trabalho.

Ao meu marido, Denis, exemplo de dedicação e profissionalismo. Obrigada pelos incentivos, compreensão, inspiração e por todo amor, respeito e carinho.

À minha filha, Valentina, por me trazer felicidade e paz, e me mostrar que os pequenos gestos e descobertas são o que tornam a vida mais leve e completa. Obrigada, filha, por me ensinar todos os dias e me motivar sempre.

Aos meus pais, Edson e Neusa, meus maiores apoiadores, minha base e meu refúgio. Obrigada por mostrarem que o sucesso é fruto de trabalho, dedicação e paciência.

Aos meus irmãos, Thiago e Silvia, meus melhores amigos, pela companhia durante toda a vida. Em especial agradeço à Silvia pelas contribuições neste trabalho.

Às minhas amigas, Biana e Thamara, pelas confidências, risadas e pelos conselhos.

À Natália, minha amiga desde a faculdade, pela amizade, pelas contribuições e ajuda no doutorado.

Ao Professor Isaías Dichi pela ajuda, contribuições e torcida.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Alessandra, Prof^a. Patrícia, Prof^o. Marcell, Profa^a Ana Paula por aceitarem o convite e pelas contribuições.

Aos membros suplentes da banca examinadora Prof^a. Ana Flávia e Prof^o. Suely pela disposição.

Ao Tiago e Mariana pela análises cromatográficas.

À minha família por me mostrar meu lugar no mundo e pela torcida.

Ao Laboratório de Imunologia do HU-UEL e aos alunos pela ajuda nas coletas e análises.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa.

À Autarquia Municipal de Londrina por autorizar a realização desta pesquisa em suas unidades, em especial à Policlínica Municipal de Londrina e ao Centrolab pelo espaço cedido e auxílio no recrutamento de pacientes e coletas.

À empresa PolpaSul, em especial ao senhor Márcio Burla, pela elaboração e doação das polpas congeladas de camu-camu.

Aos professores e equipe do Programa de Pós-graduação do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA) pelos ensinamentos, convivência e auxílio. Em especial à Sandra Rezende por toda presteza, ajuda e conversas ao telefone.

PRADO, Carolina Kato. **Avaliação da composição físico-química, capacidades redutora e antioxidante do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) e dos seus efeitos metabólicos em indivíduos com síndrome metabólica.** 2018. 53 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A síndrome metabólica (SM) é compreendida como uma série de fatores que aumenta o risco de doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2. O camu-camu tem sido estudado devido aos seus altos teores ácido ascórbico e compostos fenólicos, que podem ser responsáveis por benefícios em fatores associados a SM e redução de complicações do diabetes. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o camu-camu em relação à sua composição físico-química, avaliar as capacidades redutora e antioxidante do camu-camu e os seus efeitos metabólicos em indivíduos com síndrome metabólica. Para isso, foram realizadas análise de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, gorduras totais, proteínas totais, açúcares totais, umidade, ácido ascórbico, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina)], FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e o método de Folin-Ciocalteu. Para identificação e quantificação de compostos fenólicos foi utilizado um cromatógrafo líquido de ultra eficiência acoplado a um detector de massas (UPLC-MS/MS). Para o ensaio clínico foram selecionados trinta e seis pacientes adultos com SM e foram divididos em dois grupos: grupo controle (n = 18) e grupo camu-camu (n = 18) que consumiu o suco de camu-camu por 60 dias. Os efeitos do camu-camu na antropometria, pressão arterial, perfil lipídico, metabolismo da glicose e outros fatores de risco cardiovascular, como proteína C reativa, homocisteína e ácido úrico foram obtidos por meio de amostras de sangue dos participantes no início do estudo e após 60 dias. O camu-camu apresentou em 100 gramas (g) de polpa: $92,77 \pm 0,15$ g de umidade, $0,14 \pm 0,01$ g de gorduras totais, $0,35 \pm 0,07$ g de proteínas totais, $8,00 \pm 0,28$ g de açúcares totais, $1,93 \pm 0,01$ g de acidez total em ácido cítrico, pH $2,93 \pm 0,01$, $6,2^\circ$ Brix de sólidos solúveis e $2241 \pm 2,62$ mg de ácido ascórbico. Os compostos fenólicos presentes no camu-camu foram: miricetina (2,111 mg/100 g), ácido gálico (1,000 mg/100 g), catequina (0,550 mg/100 g), quercetina (0,444 mg/100 g), ácido clorogênico (0,282 mg/100 g), rutina (2,58mg/100 g), epigallocatequina (0,234 mg/100 g), kaempferol (0,182 mg/100 g), cafeína (0,086 mg/100 g), ácido hidroxibenzóico (0,076 mg/100 g), ácido protocatecuíco (0,072 mg/100 g), ácido nicotínico (0,062 mg/100 g), ácido p-cumárico (0,054 mg/100 g), teobromina (0,022 mg/100g), epicatequina (0,018 mg/100 g), ácido sinápico (0,004 mg/100 g). O camu-camu apresentou capacidade redutora de $2606,27 \pm 147,77$ mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g de polpa e capacidades antioxidantes de $57,30 \pm 4,19$ μ mol trolox/g para DPPH, $167,36 \pm 8,42$ μ mol trolox/g para ABTS e $1133,03 \pm 151,44$ μ mol Fe₂SO₄/g para o FRAP. A polpa congelada de camu-camu reduziu significativamente o índice de massa corpórea (IMC) (0,012), a circunferência abdominal (CA) (0,006) e o ácido úrico plasmático (AU) (0,008) em pacientes com SM que consumiram o suco por 60 dias. Os demais parâmetros não apresentaram resultados significativos. Assim, o camu-camu apresenta teores significativos de compostos bioativos e os resultados deste estudo indicam que o camu-camu pode ser considerado um potencial contribuinte

para redução da adiposidade e ácido úrico em pacientes em SM.

Palavras-chave: Camu-camu. Antioxidantes. Compostos fenólicos. UPLC-MS/MS. DPPH. ABTS. FRAP. Obesidade. Síndrome metabólica. Ácido úrico.

PRADO, Carolina Kato. **Evaluation of the physicochemical composition, reducing and antioxidant capacities of camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) and its metabolic effects in individuals with metabolic syndrome.** 2018. 53 p. Thesis (Doctoral Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The metabolic syndrome (MetS) is a series of factors that increases the risk of cardiovascular diseases and type 2 diabetes. Camu-camu has been studied due to its high ascorbic acid and phenolic compounds content, which may have benefits in factors associated with MetS and decrease diabetes complications. Therefore, the aim of this work was to characterize camu-camu in relation to its physicochemical composition, to evaluate the reducing and antioxidant capacities of camu-camu and its metabolic effects in individuals with metabolic syndrome. pH, soluble solids, titratable acidity, total fats, total proteins, total sugars, moisture and ascorbic acid analysis were performed. The identification and quantification of phenolic compounds were performed using an ultra performance liquid chromatograph coupled to a mass detector (UPLC - MS/MS). The reducing capacity was performed using the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant capacity was analyzed by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline)] and FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) methods. For the clinical trial, thirty-six adult patients with MetS were selected and divided into two groups: control group (n = 18) and camu-camu group (n = 18) that consumed camu-camu juice for 60 days. The effects of camu-camu on anthropometry, blood pressure, lipid profile, glucose metabolism and other cardiovascular risk factors, such as C-reactive protein, homocysteine and uric acid were obtained by blood samples from participants at baseline and after 60 days. The camu-camu presented in 100 grams (g) of pulp: 92.77 ± 0.15 g of moisture, 0.14 ± 0.01 g of total fats, 0.35 ± 0.07 g of total proteins, 8.00 ± 0.28 g of total sugars, 1.93 ± 0.01 g of total acidity in citric acid, pH 2.93 ± 0.01, 6.2° Brix of soluble solids and 2,241 ± 2.62 mg of ascorbic acid. The phenolic compounds present in camu-camu were: myricetin (2.111 mg/100 g), gallic acid (1,000 mg/100 g), catechin (0.550 mg/100 g), quercetin (0.444 mg/100 g), chlorogenic acid 0.272 mg/100 g), caffeine (0.086 mg/100 g), hydroxybenzoic acid (0.076 mg/100 g), rutin (2.58 mg/100 g), epigallocatechin (0.234 mg/100 g), kaempferol (0.182 mg/100 g), protocatechuic acid (0.072 mg/100 g), nicotinic acid (0.062 mg/100 g), p-coumaric acid (0.054 mg/100 g), theobromine (0.022 mg/100 g), epicatechin (0.018 mg/100g), synapic acid (0.004 mg/100 g). The camu-camu presented a reducing capacity of 2,606.27 ± 147.77 mg of gallic acid equivalent (EAG)/100 g of pulp and antioxidant capacity of 57.30 ± 4.19 µmol trolox/g for DPPH, 167.36 ± 8.42 µmol trolox/g for ABTS and 1,133.03 ± 151.44 µmol Fe₂SO₄/g for FRAP. The frozen camu-camu pulp significantly reduced body mass index (BMI) (0.012), waist circumference (WC) (0.006) and plasma uric acid (UA) (0.008) in patients with MetS who consumed the juice during 60 days. The other parameters did not present significant results. Thus, camu-camu presented significant levels of bioactive compounds and these results indicate that camu-camu could be considered a potential contributor to decrease adiposity and uric acid in patients with MetS.

Keywords: Camu-camu. Antioxidants. Phenolic compounds. UPLC-MS/MS. DDPH. ABTS. FRAP. Obesity. Metabolic syndrome. Uric acid.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	SÍNDROME METABÓLICA	12
2.2	CAMU-CAMU.....	14
2.3	RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	15
3	OBJETIVOS	19
3.1	OBJETIVO GERAL	19
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1	ARTIGO CIENTÍFICO 1	22
5.2	ARTIGO CIENTÍFICO 2	29
6	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42
	APÊNDICES	46
	APÊNDICE A – Questionário Aplicado aos Pacientes com Síndrome Metabólica	47
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	48
	ANEXOS	50
	ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP	51

1 INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica é um conjunto de fatores de risco cardiovascular, sendo a resistência à insulina sua causa primária (REAVEN, 1988).

A síndrome metabólica é um fator de risco para doença cardiovascular, sendo associada à aterosclerose, além de aumentar o risco de acidente vascular cerebral, câncer, artrite e diabetes (GUARENTE, 2006).

O consumo de frutas e vegetais tem sido associado à proteção contra enfermidades como câncer e doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, devido às suas propriedades antioxidantes, portanto, podem ser considerados componentes importantes em um programa dietético para tratamento de doenças cardiovasculares (ABETE et al., 2011). Adicionalmente, os polifenóis de plantas poderiam prevenir os fatores de risco associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica (CHERNIACK, 2011).

O camu-camu, também chamado de caçari ou araçá-d'água (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh), é um fruto de baga esférica com superfície lisa de coloração que varia de vermelho-escuro a roxa e, devido ao seu elevado teor de umidade, aproximadamente 90 %, possui característica succulenta (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002).

A *Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh é conhecida pelo seu alto teor de ácido ascórbico, variando de acordo com estágios de maturação do fruto, entre 1910 e 2280 mg/100 g de peso fruta fresca (VIDIGAL et al., 2011, CHIRINOS et al., 2010). Além disso, o camu-camu tem despertado grande interesse científico devido aos seus constituintes fenólicos e diversas pesquisas foram realizadas para determinação, quantificação e avaliação dos efeitos benéficos desses compostos (REYNERTSON et al., 2008, FRACASSETTI et al., 2013, VILLANUEVA-TIBURCIO; CONDEZO-HOYOS; ASQUIERI, 2010, INOUE et al., 2008).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SÍNDROME METABÓLICA

A síndrome metabólica (SM), também chamada de síndrome X, é caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovascular, sendo a resistência à insulina (RI) sua causa primária (REAVEN, 1988). Ela pode ser definida de acordo com três entidades internacionais: Organização Mundial de Saúde (OMS) (*World Health Organization - WHO*), *The National Cholesterol Education Program Expert Panel Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III) e a Federação Internacional de Diabetes (FID) (*International Diabetes Federation – IDF*). Embora essas definições se baseiem praticamente nos mesmos diagnósticos, elas diferem entre si por adotarem alguns critérios como sendo essenciais para o diagnóstico. Estes critérios são: alteração no metabolismo da glicose, pressão arterial elevada, alta concentração de triglicérides no sangue, baixa concentração de lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein - HDL*) e obesidade, dada pela circunferência abdominal (GRUNDY, 2016).

Segundo a OMS, o diagnóstico de síndrome metabólica deve incluir obrigatoriamente a presença de alteração no metabolismo de glicose associada a outros dois fatores de risco, podendo ser um deles a microalbuminúria que não se faz presente nas demais definições (OMS, 1999). A definição proposta pela FID também se baseia na presença de três componentes, porém a circunferência abdominal é o fator fundamental no diagnóstico de SM (FID, 2006). O NCEP-ATP III (Quadro 1) classifica a SM pela presença de três componentes dentre os cinco propostos, sem obrigatoriedade de nenhum em específico (NCEP-ATP III, 2002). Desta forma, devido à simplicidade e à aplicabilidade, a definição proposta pela NCEP-ATP III será utilizada neste trabalho.

Quadro 1 – Identificação clínica de síndrome metabólica segundo NCEP-ATP III

Componentes	Níveis
Obesidade Abdominal (circunferência Abdominal)	
Homens	>94 cm
Mulheres	>80 cm
Triglicérides	≥150 mg/Dl
Lipoproteína de alta densidade – HLD	
Homens	<40 mg/dL
Mulheres	<50 mg/Dl
Pressão arterial	≥130/≥85 mmHg
Glicose em jejum	≥100 mg/Dl

Fonte: adaptado de Reaven (2006)

A obesidade é um problema de saúde pública mundial, que contribui para o aumento da morbidade e mortalidade e é responsável por uma série de efeitos destrutivos em tecidos e órgãos, como o fígado, pois ela é associada à deposição de gordura em tecidos não adiposos desse órgão, causando estresse oxidativo que conseqüentemente leva à esteatose hepática. Além disso, é uma das principais causas de diabetes e doenças cardiovasculares (ABALLAY et al., 2013; AKEBERI; HOSSEINZADEH, 2016).

Os indivíduos com síndrome metabólica geralmente apresentam obesidade visceral, que é caracterizada por uma inflamação crônica local e sistêmica, em que há o aumento de citocinas pró-inflamatórias que pode estar ligado ao aumento do tecido adiposo e do risco de doença coronariana. Na inflamação sistêmica, a proteína C reativa de alta sensibilidade (*high sensitive C-reactive protein* - hsCRP) é um marcador que estimula a produção de outras células inflamatórias e reduz a expressão da síntese o óxido nítrico endotelial (AMIOT; RIVA; VINET, 2016), e por isso os níveis de hsCRP constituem um fator de risco médio para doença arterial coronariana e um fator de risco significativo para a SM, sendo sugerida a inclusão de seus níveis, junto com os de IL-6 e adiponectina, no diagnóstico dessa síndrome (CHEN et al., 2012).

O diabetes é um dos critérios mais importantes da SM que isoladamente já aumenta o risco de doenças arteriais coronariana e periférica e de acidente vascular cerebral. Além disso, a hiperglicemia prolongada aumenta o estresse oxidativo, que causa disfunção endotelial e constitui um importante papel no desenvolvimento da aterosclerose (AKABERI; HOSSEINZADEH, 2016).

A hiperlipidemia é um sintoma fundamental da obesidade e desordens metabólicas e é caracterizada por hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia na circulação sanguínea (ALAM et al., 2014). A hiperlipidemia a longo prazo é um fator essencial na progressão da microangiopatia, doenças cardiovascular e cerebrovascular e SM, porque altos níveis de lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein* – LDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (*very low-density lipoprotein* – VLDL), e baixos níveis de HDL induzem a um estado de estresse oxidativo no plasma, caracterizado por acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), aumento de lipoperoxidação e carbonilação de proteínas, e a uma diminuição de radicais tiol e de glutatona (GSH) (CHARRADI et al., 2013a, 2013b).

Níveis elevados de homocisteína plasmática são associados a alta prevalência de SM em pacientes hipertensos, e também a doenças cardiovasculares e coronarianas. Entretanto, tanto a homocisteína quanto a SM são fatores independentes no desenvolvimento dessas doenças (CATENA et al, 2015).

O ácido úrico sérico depende do balanço entre a ingestão, síntese endógena, excreção e metabolismo de purinas, que quando alterado leva a hiperuricemia (>7 mg/dL em homens e 6 mg/dL em mulheres). A hiperuricemia é associada a prevalência e incidência de SM, sendo também verificada sua relação com a presença de hipertrigliceridemia, baixos níveis de HDL e hipertensão. Na SM, apesar de o mecanismo ainda não estar elucidado, há evidências de que os níveis elevados de ácido úrico estejam associados com a resistência insulínica (BABIO et al, 2015).

O consumo de frutas e vegetais, devido às suas propriedades antioxidantes tem um papel importante no tratamento de doenças metabólicas (ABETE et al., 2011; ALAM et al., 2014). E os polifenóis presentes nas plantas poderiam prevenir os fatores de risco associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica (CHERNIACK, 2011), sendo o camu-camu um fruto rico em compostos bioativos que poderia ser utilizado para esse fim.

2.2 CAMU-CAMU

O camu-camu, também chamado de caçari ou araçá-d'água (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh), é um arbusto que pertence à família Myrtaceae, encontra-se disperso em quase toda a Amazônia, nas margens dos rios e lagos, e sua frutificação ocorre entre os meses de novembro a março (INPA, 2014). O camucamuzeiro produz um fruto de baga esférica com superfície lisa de coloração vermelho-escuro a roxa que, devido ao seu elevado teor de umidade, aproximadamente 90 %, possui característica suculenta (RIBEIRO; MOTA; CORRÊA, 2002).

A *Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh é conhecida pelo seu alto teor de ácido ascórbico, que comparado ao da acerola é 20 vezes maior (VIDIGAL et al., 2011). O conteúdo de vitamina C varia, de acordo com estágios de maturação do fruto, entre 1910 e 2280 mg/100 g de peso fruta fresca (CHIRINOS et al., 2010). Além disso, o camu-camu tem despertado grande interesse devido aos seus constituintes fenólicos e diversas pesquisas estão sendo realizadas para determinação, quantificação e efeitos benéficos desses compostos (REYNERTSON et al., 2008, FRACASSETTI et al., 2013, VILLANUEVA-TIBURCIO; CONDEZO-HOYOS; ASQUIERI, 2010, INOUE et al., 2008).

O conteúdo de fenólicos totais encontrado por Chirinos et al. (2010) nesse fruto no estágio maduro foi de 1320 ± 102 mg EAG em 100 g de fruta fresca, sendo superior ao da jaboticaba (640 mg 100 g⁻¹ peso fresco) a qual tem sido pesquisada por ser uma boa fonte de compostos fenólicos, sendo demonstrado em um modelo animal que ela pode

melhorar o perfil lipídico e reduzir o estresse oxidativo (ALEZANDRO; GRANATO; GENOVESE, 2013).

Silva et al. (2012) demonstraram a potente atividade antioxidante do camu-camu *in natura* por meio do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), além disso, ao realizarem ensaio de cometa com camundongos, verificaram que o suco desse fruto diminuiu significativamente os índices de dano em células sanguíneas em todos os grupos de tratamento (agudo, subagudo e crônico) evidenciando seu efeito antigenotóxico.

Outro efeito benéfico da *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh encontrado foi a redução do peso corporal, da gordura visceral e dos níveis de glicose, colesterol total, triglicerídeos, LDL e insulina sanguíneos, sendo observado um aumento no HDL, em um modelo utilizando ratos obesos tratados com 25 mL de suco do camu-camu fresco por 12 semanas (NASCIMENTO et al., 2013). Nesse trabalho os autores sugerem que os benefícios possam ser provenientes dos compostos fenólicos e do alto teor de fibra presentes no fruto.

Azevedo et al. (2014) demonstraram que extratos de camu-camu apresentaram inibição moderada e forte das enzimas α -amilase e α -glicosidase, respectivamente. Essas enzimas são associadas diretamente com a digestão de carboidratos solúveis, sendo suas inibições responsáveis por reduzir os níveis de glicose pós-prandial, que resulta em um manejo eficiente dos estágios primários do diabetes tipo 2 e suas complicações.

O camu-camu ainda apresentou atividades anti-inflamatórias e antioxidativa em um estudo realizado por Inoue et al. (2008), em que os autores verificaram que, após o consumo de 70 mL do suco integral desse fruto por 7 dias, um grupo de homens fumantes tiveram redução significativa nos níveis de 8-hidroxi-desoxiguanosina urinária, de espécies reativas de oxigênio totais, proteína C reativa, IL-6 e IL-8, quando comparado ao grupo placebo que recebeu tabletes de vitamina C. Neste trabalho foi sugerido que as atividades benéficas propiciadas pelo camu-camu são devidas aos seus compostos fenólicos e não ao seu teor de ácido ascórbico.

2.3 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES

Radicais livres são moléculas que possuem um elétron não pareado na última camada (UTTARA et al., 2009). A alta produção de radicais livres está ligada a danos a biomoléculas (lipídios, proteína e DNA), o que leva ao desenvolvimento de doenças crônicas (FANG; YANG; WU, 2002). O ânion-radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) é formado por uma

reação não enzimática em células aeróbicas, que consiste na adição de um elétron a um dióxigênio (O_2). Dois ânions superóxido podem originar dióxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), quando catalisado pela enzima chamada superóxido dismutase (SOD), porém o peróxido de hidrogênio pode surgir pela redução direta de dois elétrons de O_2 . A ligação entre oxigênio da molécula de peróxido de hidrogênio pode ser desfeita adicionando-se um elétron, o que resulta em hidróxido (HO^-), ânion relativamente inócuo, e em radical hidroxil ($\cdot OH$), altamente reativo (FARBER, 1994).

O organismo reage à formação desses radicais livres com defesas antioxidantes, porém há situações em que essas defesas estão enfraquecidas, ocorrendo um dano oxidativo na célula (FARBER, 1994).

O estresse oxidativo está relacionado a uma série de doenças e ao processo de envelhecimento e é resultado de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e as defesas antioxidantes do organismo (KALLAUR; OLIVEIRA; REICHE, 2014). As frutas e vegetais possuem grande variedade de antioxidantes que protegem as células dos danos oxidativos e conseqüentemente diminuem o risco de doenças crônicas, já que atuam impedindo ou retardando a oxidação de substâncias (URQUIZA-MARTÍNEZ; NAVARRO, 2016). Por isso, há uma grande procura por produtos naturais que possam ter uma potencial contribuição no tratamento de doenças, sendo o camu-camu uma fruta promissora nesse sentido por apresentar teores significativos de vitamina C e compostos fenólicos (LANGLEY et al., 2015).

A vitamina C e os compostos fenólicos são classificados como antioxidantes não-enzimáticos e naturais. O ácido ascórbico é um sequestrador de radicais livres, que é solúvel em água, e doa um elétron para o radical lipídico, torna-se radical ascorbato e impede a reação em cadeia da peroxidação lipídica (NIMSE; PAL, 2015). Os compostos fenólicos por sua vez podem atuar impedindo a oxidação de diversas formas: pela ligação a metais, pelo sequestro de ERO, pela produção de óxido nítrico e modulação de enzimas envolvidas na produção de ERO (BARADARAN; NASRI; RAFIEIAN-KOPAEI, 2014).

Tezcan et al. (2009) verificaram uma correlação positiva entre fenólicos totais e atividade antioxidante ($r > 0,98$). Essa mesma correlação entre conteúdo de fenóis e atividade antioxidante foi encontrada por Pande e Akoh (2009) para romã, por Soares et al. (2008) para uvas Niágara e Isabel e por Li et al. (2008) para plantas medicinais.

O método colorimétrico Folin-Ciocalteu é o mais usado na quantificação de compostos fenólicos (OLIVEIRA et al., 2009), pois baseia-se na transferência de um elétron, medindo assim a capacidade redutora do antioxidante em estudo (PRIOR et al., 1998). O reagente de Folin-Ciocalteu é composto por ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, sendo

que o molibdênio encontra-se em estado de oxidação 6+ (cor amarela – $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Os compostos fenólicos sofrem desprotonação em meio alcalino e originam os ânions fenolatos, que agem como redutores sobre os componentes do reagente de Folin e formam o complexo molibdênio-tungstênio de cor azul $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{-4}]$, permitindo a determinação da concentração das substâncias redutoras (OLIVEIRA et al., 2009).

Existem vários métodos que estimam a capacidade antioxidante *in vitro* de substâncias antioxidantes em diferentes amostras de alimentos devido à diversidade delas (PEREIRA et al., 2009). Os métodos mais empregados em frutas são a capacidade de sequestro de radicais livres, como o ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína) 6-ácido sulfônico) e o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), a capacidade de redução do íon férrico (Ferric Reducing Antioxidant Power - FRAP).

O método de DPPH consiste em avaliar a capacidade antioxidante por meio da atividade sequestradora do radical livre DPPH, que possui coloração púrpura que ao reagir com uma substância antioxidante é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de cor amarela. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH restante no meio de reação. O DPPH apresenta-se como um método simples, preciso, de fácil reprodução. (BORGES et al., 2011).

O método do ABTS é baseado na geração do cátion radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, que possui coloração azul esverdeado, a partir da reação do ABTS com persulfato de potássio, cuja absorção máxima acontece em 645, 734 e 815 nm. Quando um antioxidante é adicionado, acontece a redução do cátion radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a ABTS, que resulta na perda da coloração do meio de reação, quando a porcentagem de inibição do cátion radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é determinada em função do Trolox, que é um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método pode ser empregado no estudo de antioxidantes tanto hidrossolúveis quanto lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais (SUCUPIRA et al., 2012).

No método FRAP, o complexo férrico-tripiridiltriazina ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-TPZ}$) é reduzido em complexo ferroso ($\text{Fe}^{\text{II}}\text{-TPZ}$), na presença de um antioxidante e em condições ácidas, que possui coloração azul intensa, com absorção máxima em 593 nm. Esse método é vantajoso devido à sua rapidez, alta reprodutibilidade e baixo custo (BENZIE; STRAIN, 1996).

Devido à falta de padronização desses métodos, as comparações entre dados publicados por diferentes grupos de pesquisas, especialmente no que se refere ao uso de diferentes solventes e às maneiras distintas de expressar os resultados, se tornam

difíceis, assim como as variações no complexo antioxidante de um alimento podem fornecer diferentes respostas em cada um dos métodos. Portanto, a combinação de pelo menos dois desses métodos para fornecer resultados mais completos e representativos da capacidade antioxidante de frutas é recomendada (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição físico-química, as capacidades redutora e antioxidante do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh) e seus efeitos metabólicos em indivíduos com síndrome metabólica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a composição físico-química do camu-camu;
- b) Determinar a composição de compostos fenólicos da polpa por meio de cromatografia líquida de ultra eficiência;
- c) Avaliar a capacidade redutora do camu-camu por meio do ensaio de Folin-Ciocalteu;
- d) Avaliar a capacidade antioxidante do camu-camu por meio de DPPH, FRAP e ABTS;
- e) Avaliar os efeitos do consumo de camu-camu no IMC e Circunferência Abdominal de pacientes com síndrome metabólica;
- f) Analisar o efeito da ingestão de camu-camu na pressão arterial de indivíduos com síndrome metabólica;
- g) Verificar o efeito da ingestão de camu-camu no perfil lipídico e glicêmico de indivíduos com síndrome metabólica.
- h) Avaliar o efeito da ingestão de camu-camu nos níveis de proteína C reativa e ácido úrico de indivíduos com síndrome metabólica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este item será apresentado no item **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO** desta tese, que resultou em 2 artigos científicos relacionados a seguir:

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

PRADO, C. K.; PRADO, S. K.; MUDENUTI, N. V. R.; MADEIRA, T. B.; ALMEIDA, M. B.; NIXDORF, S. L.; MIGLIORANZA, L. H. S.; SPINOSA, W. A. Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh): identify and quality standars, phenolic compounds, and reducing and antioxidante capacities of the pulp. Submetido para avaliação no periódico **Current Nutrition and Food Science**.

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

PRADO, C. K.; MARI, N. L.; ALFIERI, D. F.; MIGLIORANZA, L. H. S.; DICH, I.; SPINOSA, W. A.; SIMÃO, A. N. C. Frozen camu-camu [*Myrciaria dúbia* (H. B. K.) Mcvaugh] pulp reduces body mass index, waist circumference and uric acid in patients with metabolic syndrome. Submetido para avaliação no periódico **Nutrition**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este item foi apresentado na forma de dois artigos científicos submetidos a avaliação para publicação, conforme descrito no item anterior.

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1:

CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA* (H.B.K.) Mc VAUGH): IDENTIFY AND QUALITY STANDARDS, PHENOLIC COMPOUNDS, AND REDUCING AND ANTIOXIDANT CAPACITIES OF THE PULP.

(Artigo submetido à avaliação do periódico Current Nutrition and Food Science)

Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh): identity and quality standards, phenolic compounds, and reducing and antioxidant capacities of the pulp.

Carolina Kato Prado^a, Silvia Kato Prado^b, Natália Vicente Rezende Mudenuti^a, Tiago Bavelieri Madeira^c; Mariana Bortholazzi Almeida^c; Suzana Lucy Nixdorf^c; Lúcia Helena da Silva Miglioranza^a; Wilma Aparecida Spinosa^{*a}.

^aDepartment of Food Science and Technology, Center for Agrarian Sciences, State University of Londrina, Londrina, Brazil; ^bDepartment of Chemistry, Polytechnic Center, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil; ^cDepartment of Chemistry, Center of Exact Sciences, State University of Londrina, Londrina, Brazil.

Please provide
corresponding author(s)
photograph

Abstract: Background: Camu-camu is a common fruit of the Amazon region, known for its high vitamin C content, which presents bioactive compounds with anti-inflammatory, hypoglycemic, antimutagenic and neuroprotective potential. Its limited consumption and use in the food industry is due to the acidic and astringent taste of the fruit. Studies that can characterize the physicochemical and bioactive compounds are relevant and justifiable since they can provide useful information for the better technological exploitation of camu-camu by the food industry.

Objectives. The objective of this study was to characterize camu-camu pulp in relation to its standards of identity and quality, its phenolic compounds and its reducing and antioxidant capacity, aiming to evaluate its potential use in the food industry.

Method: The physicochemical analysis methods, UPLC-MS/MS, the Folin-Ciocalteu method, DPPH, ABTS and FRAP were used.

Results: Camu-camu presented a moisture content of 92.77 g/100 g, vitamin C of 2.24 g/100 g and a reducing capacity of 2.60 g GAE/100 g. The pH was 2.93 and the total sugar content was 8.00 g/100 g. The phenolic compounds present in camu-camu were nicotinic acid, gallic acid, protocatechuic acid, theobromine, epigallocatechin, hydroxybenzoic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeine, epicatechin, p-coumaric acid, sinapic acid, quercetin, rutin, myricetin and kaempferol. The antioxidant capacity for the evaluated methods of DPPH, ABTS and FRAP were 57.30 ± 4.19 $\mu\text{mol trolox/g}$, 167.36 ± 8.42 $\mu\text{mol trolox/g}$ and 1133.03 ± 151.44 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$, respectively.

Conclusion: From the results obtained it can be inferred that the fruit has potential for use in the food industry as an important source of bioactive compounds.

Keywords: DPPH. ABTS. FRAP. HPLC-MS/MS. Bioactive compounds. Antioxidants. Ascorbic acid. Polyphenols.

1. INTRODUCTION

Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) is a spherical berry fruit with a smooth surface of dark red to purple coloration that has a high moisture content of approximately 90 % [1]. It is also known as caçari or araçá-d'água belonging to the family *Myrtaceae*, and is found scattered throughout most of the Amazon, on the banks of rivers and lakes, where its fruiting occurs between November and March [2].

Due to the high acidity of the pulp, camu-camu is used more in juice preparation, concentrate for the preparation of other food products and for the preparation of vitamin C capsules [3]. However, one of the factors that contribute to the restriction of its consumption is the highly acidic taste of pulp and bitterness of the peel, leading to the need for research into its best use. One of the alternatives for the use of this fruit is in the form of frozen, nutritious, ready-to-eat and easily processed pulp [4].

The properties of camu-camu have aroused the

economic and scientific interest of the pharmaceutical industries, presenting great economic potential capable of placing it at the same level of importance as other common fruits of the Amazon region, such as açai and cupuaçu [5]. For this reason, camu-camu has been exported to Japan and the United States on a large scale [6].

Myrciaria dubia is known for its high ascorbic acid content, which compared to that of acerola is approximately 20 times greater [7]. In addition to the ascorbic acid content, the phenolic constituents of camu-camu have aroused great interest and therefore this fruit has been studied, presenting neuroprotective [3], hepatoprotective [8], antimutagenic [9], hypoglycemic [10] and anti-inflammatory [11] effects.

Both vitamin C and phenolic compounds are classified as non-enzymatic antioxidants, as they are natural. Ascorbic acid is a water-soluble free radical scavenger, which donates an electron to the lipid radical and becomes ascorbate radical, preventing the chain reaction of lipid peroxidation [12]. Phenolic compounds can act by preventing oxidation in several ways: by binding to metals, by sequestration of reactive oxygen species (ROS), by the production of nitric oxide and through the modulation of enzymes involved in the production of ROS [13].

* Address correspondence to this author at the Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, P.O. Box: 10,011, Londrina, Brazil; Tel/Fax: ++055-043-3371-4080, +055-043-3371-4585; E-mail: wilma.spinosa@uel.br

Oxidative stress is related to a number of diseases and also to the aging process, resulting from an imbalance between the production of ROS and the body's antioxidant defenses [14]. Fruits and vegetables have a wide variety of antioxidants that protect cells from oxidative damage and consequently reduce the risk of chronic diseases, since they act to prevent or delay the oxidation of substances [15]. Therefore, there is a great demand for natural products that may have a potential contribution in the treatment of diseases [16].

Thus, the aim of this work was to characterize camu-camu in relation to its physicochemical and phenolic compound composition and to evaluate its antioxidant capacity, highlighting its economic potential and application in the food industry.

2. MATERIAL AND METHODS

The frozen camu-camu pulp was donated by the company PolpaSul. The mature, red colored fruits, were acquired by the company from trees cultivated along the Madeira River in the Amazon region. After removal of the pulp, the product, free of any additives, was packed in individual plastic containers with a capacity of 100 grams and frozen for the subsequent physicochemical analyses and evaluation of the reducing and antioxidant capacity.

2.1 Physicochemical analyses

Analyses of pH, soluble solids, titratable acidity, total fats, total proteins, total sugars, moisture and ascorbic acid were performed.

The pH (pH meter PG2000, Gehaka®, Brazil), total acidity in citric acid, soluble solids in °Brix (Refractometer - RM40, Mettler Toledo®, USA) and vitamin C were obtained according to the methodology of the Adolfo Lutz Institute [17] in which the total acidity was expressed as g/100 g and vitamin C in mg/100 g. For the analyses of moisture, total proteins, total fats and total sugars methodologies according to the Association of Official Analytical Chemists [18] were used and the results were expressed in g/100 g.

2.2 Determination of phenolic compounds and analyses of reducing capacity and antioxidant capacity

For these analyses an extract was made from the frozen camu-camu pulp.

2.2.1 Extract

The camu-camu extract was obtained according to the methodology of Rufino *et al.* [19], using two extractions of 5 g of sample, the first with a mixture of water and methanol and the second with acetone and water.

2.2.2 Quantification of phenolic compounds by ultra performance liquid chromatography with mass spectrometry (UPLC-MS/M)

For this analysis, 1 mL of the camu-camu extract was dried in a nitrogen flow and resuspended in 1 mL of methanol.

For the determination of phenolic compounds, Ultra Performance Liquid Chromatography (Accuity UPLC, Waters, MA, USA) with tandem mass spectrometry (Accuity Tandem Quadrupolo, Waters, MA, USA) was used in positive ionization mode, with desolvation gas (Nitrogen) temperature of 500 °C, at a flow rate of 900L/h, and with the cone gas maintained at the same temperature at the flow rate of 20 L/h. The ionization source temperature was 120 °C. The sample cone and extractor voltages were optimized for each compound and the capillary voltage was 3.5 kV. For the separation of the phenolic compounds a Waters BEH C8 column with dimensions of 2.1 x 50 mm and particle of 1.7 µm was used. The chromatographic conditions were: mobile phase A composed of water and 0.1% formic acid and mobile phase B composed of methanol and 0.1% formic acid. From 0 to 0.4 minutes the mobile phase gradient used was 95 % (A) and 5 % (B), then phase (B) had its proportion increased linearly up to 95 % over the time of 15.40 minutes and maintained in the same proportion up to 18.40 minutes. At the time of 18.41 minutes, the proportions of the phases were returned to the initial conditions for 20 minutes. The injection volume of the sample was 10 µL and the sample was diluted 10 times (1:10) in water prior to injection.

2.2.3 Reducing Capacity

The determination of the reducing capacity was performed through the Folin-Ciocalteu method [20], modified by Reynertson *et al.* [21]. The standard curve of gallic acid solution was obtained in duplicate at concentrations of 50, 100, 150, 180, 200 and 250 µg/mL and the absorbance read at 765 nm.

2.2.4 Antioxidant Capacity

Analyses for the determination of antioxidant capacity were performed using three methods: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] and FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power), according to Rufino *et al.* [22].

2.2.4.1 DPPH

In this analysis 3.9 mL of 0.06 mmol/L DPPH solution was added to 100 µL of camu-camu extract. The absorbance was read at 515 nm at 1 minute intervals for the first 10 minutes then at 5 minute intervals until stabilization. The standard Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) solution curve was obtained from a stock solution at 250 µg/mL diluted at the concentrations of 25, 50, 100, 150 and 200 µg/mL.

2.2.4.2 ABTS

The determination of antioxidant capacity through the ABTS method was performed by adding 30 µL of the camu-camu extract diluted to 5000 µg/mL to 3 mL of ABTS working solution, with the absorbance measured at 734 nm after 6 minutes of agitation. The standard

curve was obtained by means of dilutions at 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5, 1.8 and 2.0 mM from an 8 mM stock solution of Trolox.

2.2.4.3 FRAP

For this determination 0.9 mL of the FRAP reagent at 37 °C were mixed with 30 µL of sample and 90 µL of distilled water, with the absorbance at 595 nm being read after 30 minutes at 37 °C. The standard curve was made using the concentrations of 50, 100, 200, 300, 400, 500 and 600 µg/mL.

2.2.4.4 Chemicals and reagents

Standards of xanthenes (theobromine, caffeine), phenolic compounds (catechin, epicatechin, epigallocatechin, rutin, myricetin, quercetin, kaempferol, gallic acid, protocatechuic acid, sinapic acid, *p*-coumaric acid, and chlorogenic acid) and alkaloids (nicotinic acid and trigonelline) were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, USA). Chromatographic solvents, methanol and formic acid, were HPLC-grade (LiChrosolv®, Merck, Darmstadt, Germany). The reagents and solvents (acetone, acetic acid, calcium carbonate, citric acid, ethanol, ferric chloride, ferric sulfate, hydrochloric acid, methanol, potassium persulfate, potassium phosphate, sodium acetate and sodium carbonate) used in the extractions and spectrophotometric methods were of analytical grade (Anidrol, Diadema, Brazil). The reagents and standards (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-*s*-triazine (TPTZ), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTSTM), fluorescein, Folin-Ciocalteu's reagent and gallic acid (3,4,5-Trihydroxybenzoic acid)) used in the spectrophotometric methods were purchased from Sigma Aldrich, St. Louis, USA.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The results of the physicochemical characterization of the camu-camu pulp are presented in Table 1. Camu-camu presented a high moisture content, corroborating results found by Aguiar and Souza [6] and Fujita *et al.* [24], 94.1 ± 0.1 g/100 g of fruit and 92.9 ± 0.1 g/100 g of camu-camu, respectively, conferring a succulent characteristic to this fruit.

Table 1 Physicochemical characterization of frozen camu-camu pulp

Characteristic	Mean ± SD
Moisture (g/100 g)	92.77 ± 0.15
Total fats (g/100 g)	0.14 ± 0.01
Total proteins (g/100 g)	0.35 ± 0.07
Total sugars (g/100 g)	8.00 ± 0.28
Total acidity (g/100 g)	1.93 ± 0.01
pH	2.93 ± 0.01

Soluble Solids (° Brix)	6.2 ± 0.00
Ascorbic acid (mg/100 g)	2241 ± 2.62

Camu-camu presented low pH, which, according to Nascimento *et al.* [5], is explained by the ascorbic acid content. The extremely acidic flavor, combined with the low sugar content, has led to its low acceptance, even by the population of the Amazon region, and its limited commercial utilization [4].

Rufino *et al.* [22], when evaluating several tropical fruits from Brazil, found that camu-camu presented the highest level of vitamin C (1882 ± 43.2 mg/100 g of fresh fruit), being higher than that of acerola (1357 ± 9.5 mg/100 g of fresh fruit). In this work the vitamin C content was higher than that found by Baldeón *et al.* [23] (1092.85 ± 47.68 mg/100 g of fresh fruit), but close to that found by Aguiar and Souza [6] (2031 ± 0.04 mg/100 g of fresh fruit) and Rufino *et al.* [22].

In a study [25], in which the maturation stage and the storage time of the fruit were evaluated, in all the maturation stages (immature, semi-mature and mature) and at the initial time, as well as at the other storage times, it presented levels of ascorbic acid higher than that of the present study. This reached a level of 6112 mg/100g of fresh fruit, which the authors attributed to the fact that the pulp and the peel were processed together, verifying that the camu-camu peel contributes to its high ascorbic acid content. This constitutes a by-product that could be used by the food industry to obtain vitamin C to use as a preservative and to fortify foods.

The phenolic compounds identified by UPLC-MS/MS are presented in Table 2. The main phenolic compounds found were gallic acid, epigallocatechin, chlorogenic acid, quercetin, rutin, myricetin and kaempferol.

Table 2. Phenolic compounds identified and quantified in frozen camu-camu pulp through UPLC-MS/MS.

Compounds	Concentration (mg/100 g fruit)
Myricetin	2.110
Gallic acid	1.000
Catechin	0.550
Quercetin	0.444
Chlorogenic Acid	0.282
Rutin	0.258
Epigallocatechin	0.234
Kaempferol	0.182
Caffeine	0.086

Hydroxybenzoic acid	0.076
Protocatechuic acid	0.072
Nicotinic acid	0.062
p-Coumaric acid	0.054
Theobromine	0.022
Epicatechin	0.018
Synaptic acid	0.004

Balisteiro *et al.* [10] when analyzing juices from 6 native fruits from Brazil, including camu-camu, verified that the phenolic compounds found by high-performance liquid chromatography with a diode array detector (HPLC/DAD) were syringic acid, quercetin, free ellagic acid, total ellagic acid and myricetin derivatives, while catechin, epicatechin and kaempferol derivatives were not found in this study. The quercetin and myricetin derivatives, the only compounds similar to this work, presented values of 0.46 and 0.61 mg/100 mL of juice, respectively, that is, the quercetin concentration was similar while the levels of myricetin were lower than those of this study.

Fracassetti *et al.* [26] when analyzing the pulp, seed and peel of fresh camu-camu fruit, as well as pulp, powder and flour, using high-performance liquid chromatography with a photo diode array detector (HPLC/PDA), found derivative compounds of quercetin, myricetin, ellagic acid, gallic acid, anthocyanins, ellagitannins and proanthocyanins. However, in fresh pulp only derivatives of myricetin (1.79 mg/100 g of pulp), quercetin (0.14 mg/100 g of pulp), ellagic acid (0.06 mg/100 g of pulp), anthocyanins (0.32 mg/100 g of pulp) and ellagitannins (6.67 mg/100 g of pulp) were found, with the levels of myricetin and quercetin derivatives being lower than the quercetin and myricetin levels in this study.

These differences in the levels and types of phenolic compounds may be due to the stage of maturation, the region of cultivation and also the presentation of the fruit, since the frozen pulp presented higher content of these compounds than the fresh camu-camu in a study that investigated the chemical composition of frozen pulp and its effects on lipid profile, glycemia, antioxidant capacity, lipid peroxidation, and antioxidant enzyme activity in the plasma of rodents with type 1 diabetes. In the same study an improvement in the hyperlipidemia and lipid peroxidation of these rats was observed [27].

The reducing capacity, shown in Table 3, presented higher values than those found by Chirinos *et al.* [28], 1120 ± 47, 1420 ± 193 and 1320 ± 102 mg GAE in 100 grams of fresh fruit according to the maturation stages: fully green, reddish-green and red, respectively. However, the fruit studied was from Peru, while the fruit used in this study was cultivated in the Brazilian Amazon. These authors concluded that camu-camu presented a high reducing capacity when compared to

cherries, plums, strawberries and blueberries, among other berries type fruits.

Table 3. Reducing capacity and antioxidant capacity of frozen camu-camu pulp.

Parameter	Mean ± SD
Reducing capacity (mg GAE/100 g)	2606.27 ± 147.71
DPPH (µmol trolox/g)	57.30 ± 4.19
ABTS (µmol trolox/g)	167.36 ± 8.42
FRAP (µmol Fe ₂ SO ₄ /g)	1133.03 ± 151.44

Neves *et al.* [29] found reducing capacity and ascorbic acid values of 12420.12 mg GAE/100 g of fresh fruit and 3474.09 mg/100 mL of pulp, respectively, for fruits at the beginning of maturation. This was deemed the best harvest time to obtain higher quantities of these compounds, because with the maturation their concentrations decreased due to catabolic reactions of this process. With the harvesting carried out at the beginning of maturation, after 5 days of cold storage losses of 75.23 % and 98.36 % were observed for the phenolic compound and vitamin C, respectively [29]. The importance of defining when the losses of these compounds occur is due to their antioxidant capacities [30].

It is possible to observe from the DPPH analysis of the present study that camu-camu presented antioxidant capacities lower than those found by Chirino *et al.* [28] for three maturation stages analyzed by the authors (153 ± 8, 185 ± 11 and 167 ± 11 µmol trolox/g for the green, reddish-red and red stages, respectively), which, as with the reducing capacity, may be due to the origin of the fruit, since the fruits used in this study had a degree of red maturation, that is, they were mature.

The antioxidant capacity obtained by the ABTS method was higher than that found by Rufino *et al.* [22] in fresh camu-camu (153 ± 2.6 µmol trolox/g fresh fruit), who concluded that, among the 18 Brazilian fruits analyzed, camu-camu presented the highest antioxidant capacity, being the case for both the dry and fresh material.

Azevedo *et al.* [9] verified a high antioxidant capacity, determined by DPPH and ABTS, for camu-camu fruits grown in dry (1520.45 ± 112.79 and 1418.25 ± 17.65 µmol equivalent of Trolox/g of camu-camu in the mature stage through DPPH and ABTS, respectively) and flooded (1124.37 ± 29.12 and 1209.08 ± 65.66 µmol equivalent of Trolox/g of mature camu-camu for DPPH and ABTS, respectively) environments. This capacity was higher in the fruits grown in the dry environment and in those in the mature stage. The authors concluded that when cultivated in non-native regions this fruit preserves its antioxidant capacity, which may also be more related to the higher quantities of total anthocyanins and polyphenols present in mature fruits.

The value found by the FRAP method resembles those presented by Chagas *et al.* [31] for camu-camu in the immature and semi-mature stages of maturation (1287.56 and 1355.56 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$, respectively), however, was lower than the value of the "mature" stage (1994.93 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4/\text{g}$). Thus, it was verified that the stage of maturation influences the compounds present in the camu-camu, which confer its antioxidant capacity. Still regarding the study mentioned the fruits came from plants native to the shores of Lago da Morena in the State of Roraima, unlike those of this study that were harvested from plants native to the banks of the Madeira River in the Amazon.

An alternative, due to the bitter and acidic taste of camu-camu, is the production of powdered extract so that camu-camu can be used as an ingredient by the food industry with the role of increasing the antioxidant content of other foods, aiming to obtain a functional product and use it as a food preservative. However, Azevedo *et al.* [32] observed that the heat used to dry the camu-camu residues significantly reduced the vitamin C content and its reducing capacity and consequently reduced the antioxidant capacity measured by the DPPH method. The losses in reducing capacity reached 50.7 % and 63.9 %, and 98.21 % and 98.89% for ascorbic acid at temperatures of 40°C and 80°C, respectively. When the lyophilization drying process was used the losses were 42.21 % and 97.42 % for reducing capacity and ascorbic acid, respectively. Therefore, the frozen fresh pulp, as used in this study, conserves the bioactive compounds present in camu-camu, because it is a less processed product and is stored at low temperatures, being more interesting for its exploitation considering the health benefits.

CONCLUSION

Camu-camu has significant levels of bioactive compounds and high antioxidant capacity, being a fruit that could be well utilized in Brazil, however, it is necessary to find ways to consume it. This could increase its value in the national market and could be a source of income for producers, being able to be cultivated in different places of the Amazon, however, with the appeal of a Brazilian product with functional properties.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no interest, financial or other conflicts.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Mr. Márcio Bula of the company PolpaSul for providing and processing the camu-camu pulp.

REFERENCES

[1] Ribeiro SI, Mota MGC, Corrêa MLP. Recomendações para o cultivo do camucamuzeiro no Estado do Pará. Circular Técnica, Embrapa, Belém (PA) 2002.

- [2] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Cultivo do camu-camu. [Online] 2018 [cited 2018]. Available at www.inpa.gov.br/cpca/areas/camu-camu.html.
- [3] Azevedo JCS, Borges KC, Genovese MI, Correia RTP, Vatted DA. Neuroprotective effects of dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K. McVaugh) residue in *C. elegans*. Food Research International 2015.
- [4] Maeda RN, Pantoja L, Yuyama LKO, Chaar JM. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh). Ciência e Tecnologia de Alimentos 2006; 26(1): 70-4.
- [5] Nascimento OV, Boleti APA, Yuyama LKO, Lima ES. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. Anais da Academia Brasileira de Ciências 2013; 85: 355-63.
- [6] Aguiar JPL, Souza FCA. Antioxidants chemical composition and minerals in freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh) pulp. Food and Nutrition Sciences 2015; 6: 869-74.
- [7] Vidigal MCTR, Minim VPR, Carvalho NB, Milagres MP, Gonçalves ACA. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). Food Research International 2011; 44:1988-96.
- [8] Akachi T, Shiina Y, Kawaguchi T, Kawagishi H, Morita T, Sugiyama K. 1-Methylmalate from camu-camu (*Myrciaria dubia*) suppressed D-galactosamine-induced liver injury in rats. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 2010; 74(3): 573-78.
- [9] Azevedo L, Ribeiro PFA, Oliveira JAC, *et al.* Camu-camu (*Myrciaria dubia*) from commercial cultivation has higher levels of bioactive compounds than native cultivation (Amazon Forest) and presents antimutagenic effects *in vivo*. Journal of Science of Food and Agriculture 2018.
- [10] Balisteiro DM, Araujo RL, Giacaglia LR, Genovese MI. Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. Food Research International 2017; 100: 196-203.
- [11] Inoue T, Komoda H, Uchida T, Node K. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. Journal of Cardiology 2008; 52: 127-32.
- [12] Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. Royal Society of Chemistry Advances 2015; 5: 27986-28006.
- [13] Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: possibility of hypertension therapy with antioxidants. Journal of Research of Medical Sciences 2014; 19(4): 358-67.
- [14] Kallaur AP, Oliveira SR, Reiche EMV. The role of genetic polymorphisms in oxidative stress. In: Dichi J, Breganó JW, Simão ANC, Cecchini R. Role of oxidative stress in chronic diseases, CRC Press: New York 2014; pp. 7-44.
- [15] Urquiza-Martínez MV, Navarro BF. Antioxidant capacity of foods. Free Radicals and Antioxidants 2016; 6(1): 1-12.
- [16] Langley PC, Pergolizzi JV, Taylor Jr R, Ridgway C. Antioxidant and associated capacities of camu-camu (*Myrciaria dubia*): a systematic review. The Journal of Alternative and Complementary Medicine 2015; 21(1): 8-14.
- [17] Instituto Adolfo Lutz (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 2nd ed. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo 2008.
- [18] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis of the AOAC. 20th ed. AOAC: Washington 2016.
- [19] Rufino MSM, Alves RE, Fernandes FAN, Brito ES. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruit extracts. Food Research International 2011; 44: 2072-75.
- [20] Singleton VL, Rossi JA Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 1965; 16(3): 144-58.
- [21] Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile M, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. Food Chemistry 2008; 109: 883-90.
- [22] Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chemistry 2010; 121: 996-1002.
- [23] Fujita A, Borges K, Correia R, Franco BDGM, Genovese MI. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu

- (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh). Food Research International 2013; 54: 495-500.
- [24] Baldeón EO, Alcañiz M, Masot R, Fuentes EM, Barat JM, Grau R. Voltammetry pulse array developed to determine the antioxidant activity of camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) and tumbo (*Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey) juices employing voltammetric electronic tongues. Food Control 2015; 54: 181-7.
- [25] Grigio ML, Chagas EA, Durigan MFB, Sousa AA, Mota Filho AB, Chagas PC. Determination of harvest time and quality of native camu-camu fruits (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) during storage. Fruits 2016; 71(6): 373-78.
- [26] Fracassetti D, Costa C, Moulay L, Tomás-Barberán FA. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). Food Chemistry 2013; 139: 578-88.
- [27] Gonçalves AESS, Lellis-Santos C, Curi R, Lajolo FM, Genovese MI. Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type 1 diabetic rats. Food Research International 2014; 64: 1-8.
- [28] Chirinos R, Galarza J, Betalleluz-Pallardel I, Pedreschi R, Campos D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. Food Chemistry 2010; 120: 1019-24.
- [29] Neves LC, Campos AJ, Cisneros-Zevallos L, Colombo RC, Roberto SR. Postharvest behavior of camu-camu fruits based on harvesting time and nutraceutical properties. Scientia Horticulturae 2017; 217: 276-84.
- [30] Carvalho-Silva LB, Dionísio AP, Pereira ACS, Wurlitzer NJ, Brito ES, Bataglioni GA *et al.* Antiproliferative, antimutagenic and antioxidant activities of a Brazilian tropical fruit juice. LWT – Food Science and Technology 2014; xxx: 1-6.
- [31] Chagas EA, Grigio ML, Durigan MFB, Fujita E, Vieites RL. Caracterização centesimal e compostos bioativos de frutos do camu-camu em diferentes estádios de maturação: 2015: Anais do 1º Congresso Brasileiro de Processamento Mínimo e Pós-colheita de Frutas, Flores e Hortaliças; 2015 Maio 24-28; Aracaju, Brazil. Aracaju, SE: Universidade Federal de Sergipe 2015.
- [32] Azevêdo JCS, Fujita A, Oliveira EL, Genovese MI, Correia RTP. Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H. B. K. McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. Food Research International 2014; 62: 934-40.

5.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2:

FROZEN CAMU-CAMU [*MYRCIARIA DUBIA* (H. B. K.) McVAUGH] PULP REDUCES BODY MASS INDEX, WAIST CIRCUMFERENCE AND URIC ACID IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME: A PILOT STUDY.

(Artigo submetido à avaliação do periódico Nutrition)

Frozen camu-camu [*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mcvaugh] pulp reduces body mass index, waist circumference and uric acid in patients with metabolic syndrome: a pilot study.

Effects of camu-camu on metabolic syndrome

Carolina Kato Prado^a, MsC, Naiara de Lourenço Mari^b, PhD, Daniela Frizon Alfieri^b, MsC, Lúcia da Silva Miglioranza^a, PhD, Isaías Dichi^c *, MD, PhD, Wilma Aparecida Spinosa^a, PhD, Andréa Name Colado Simão^b, PhD.

CKP was responsible for recruiting the patients, interpretation of the results and the writing of the manuscript. NLM and DFA were responsible for recruiting the patients and the laboratorial analysis. LSM, WAS and ANCS were responsible for the original concept of the study, the study design, interpretation of the results and the writing of the manuscript. ID were responsible for interpretation of the results and the writing of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

The manuscript has 2850 words and 01 table

^a Department of Food Science and Technology, University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil.

^b Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology, University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil.

^c Department of Internal Medicine, University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil.

***Corresponding author:** Isaias Dichi, MD, PhD

Address: Department of Internal Medicine. Rua Robert Koch nº 60 Bairro Cervejaria, University of Londrina. Londrina, Paraná, Brazil. Zip Code: 86038-440

Telephone: (55) 43 3371 2234

E-mail: dichi@sercomtel.com.br

Abstract

Objective: Camu-camu is a typical Amazonian fruit which has high amounts of vitamin C and phenolic compounds that present metabolic effects. Some studies, mainly in animal models, have shown the beneficial effects of camu-camu on the parameters of metabolic syndrome (MetS) and other cardiovascular risks, but the effect of camu-camu in patients with MetS has not yet been reported. The aim of this study was to evaluate the effect of frozen camu-camu pulp on the classical parameters of MetS and other related cardiovascular risk factors.

Research Methods & Procedures: Thirty six subjects with MetS were selected and divided into two groups: control group (n = 18) and camu-camu group (n = 18) who consumed the juice during 60 days. The effects of camu-camu on anthropometry, lipid profile, glucose metabolism and other cardiovascular risk factors, such as C-reactive protein, homocysteine and uric acid levels were assessed in blood samples of the individuals at the baseline and after 60 days.

Results: Frozen pulp of camu-camu significantly decreased body mass index (0.012), waist circumference (0.006), and plasma uric acid (0.008) in patients with MetS who consumed camu-camu juice during 60 days. All other measured parameters did not show significant results.

Conclusions: Camu-camu juice contributed to prevent metabolic effects of MetS by reducing BMI, WC and UA. These results indicate that camu-camu could be considered a potential contributor to decrease adiposity and uric acid in patients with MetS.

Keywords: *Myrciaria dubia*, camu-camu, metabolic syndrome, obesity, uric acid.

INTRODUCTION

Metabolic syndrome (MetS) is a series of associated risk factors which includes central obesity, dyslipidemia, systemic arterial hypertension (SAH), and insulin resistance (IR). These metabolic modifications can lead to type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease, and therefore MetS is considered a worldwide public health issue [1]. Diet plays an important role in metabolic parameters of MetS, and the inclusion of fruits and vegetables in treatment of patients with MetS can decrease dyslipidemia, control blood pressure and improve insulin resistance [2].

Among the fruits that have high potential bioactive compounds, camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H. B. K.) Mcvaugh), a red colored berry fruit, typical from Amazonian that grows on the banks of lakes and rivers in the Amazon forest, which is known for its impressive quantity of high ascorbic acid besides being a rich source of fiber and flavonoids, such as ellagic acid, ellagitannins and proanthocyanidins [3,4].

Although its known chemical composition, few studies have verified the metabolic effects of camu-camu and these studies were performed in animal models [3,4]. We are not aware of any study which has evaluated the effects of camu-camu in MetS. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of camu-camu on metabolic parameters in patients with MetS.

SUBJECTS AND METHODS

Patients with MetS aged 18 and older attended in Policlínica Municipal of Londrina, Paraná, Brazil were chosen for this study. Seventy eight patients were contacted by telephone, but thirty three were considered ineligible. Exclusion criteria were thyroid, renal, hepatic, gastrointestinal or oncological diseases. Participants who were taking anti-hypertensive and/or hypoglycemic and/or lipid-lowering drugs were not excluded and were allowed to continue taking the same dose of the drugs. None of the subjects followed a specific diet before the beginning of the study. After exclusion, forty five (twenty two men and twenty three women) were divided into two groups: control group included 23 subjects and camu-camu-treated (CJ) group consisted of 22 subjects.

Patients were instructed by a nutritionist to maintain their usual diets, alcohol intake, level of physical activity or other lifestyle factors throughout the intervention period. Participants of the camu-camu-treated group consumed 200 mL of camu-camu daily. The composition of juice was 100 grams (g) of frozen pulp of camu-camu (PolpaSul, Japurá,

Paraná, Brazil), 100 mL of water and 0.2 mL of stevia sweetener (Lighsweet-Lowçucar, Marialva, Paraná, Brazil). The camu-camu pulp presented in 100 g: 92.77 g of humidity, 8.0 g of total sugars, 0.35 g of total proteins, 0.14 g of total fats, 2241 mg of vitamin C, and the following phenols: 1,0 mg of galic acid, 0.234 mg of epigallocatechin, 0.282 mg of chlorogenic acid, 0.444 mg of quercetin, 0.258 mg of rutin, 2.11mg of myricetin, and 0.182 mg of kaempferol. All patients were evaluated at the beginning and after 60 days (d). The Ethical Committee of the University of Londrina, Paraná, Brazil approved all procedures involving human participants. Written informed consent was obtained from all the participants.

MetS was defined following the Adult Treatment Panel III criteria [5]. Anthropometric measurements and laboratorial parameters were assessed at the beginning of the study and after 60 d. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg, using electronic scales, height was measured to the nearest 0.1 cm, using a stadiometer. Body mass index (BMI) (kg m^{-2}) was calculated. Waist circumference (WC) was measured on standing subjects midway between the lowest rib and the iliac crest using a flexible, inelastic tape. Three blood pressure measurements were taken with a calibrated sphygmomanometer and a 1-min interval between on the left arm of seated patients. After 12 h fasting, the patients underwent the following laboratory blood analysis: Glucose, total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low-density lipoprotein cholesterol (LDL), triacylglycerols (TAG), plasma total homocysteine levels and uric acid (UA), evaluated by a biochemical auto-analyzer (Dimension Dade AR Dade Behring, Deefield, IL, USA), using Dade Behring® kits; serum high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) measured by a nephelometric assay (Behring Nephelometer II; Dade Behring, Marburg, Germany); plasma insulin levels determined by chemiluminescence microparticle immunoassay (Architect; Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA). The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was used as a surrogate measurement of insulin sensitivity. $\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin (U/mL)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$. Insulin resistance (IR) was considered when $\text{HOMA-IR} \geq 2.5$. Castelli risk indexes I and II were used to determine the cardiovascular disease risk and they were calculated by the ratio of TC and HDL and the ratio of LDL and HDL, respectively [6].

Data were expressed as median and interquartile range (25-75%), and as absolute number (n) and percentage (%). Categorical data were analyzed with the chi-square or Fisher's exact test. Continuous data were analyzed with Mann-Whitney test. The Wilcoxon matched pairs test was performed to verify changes from baseline (intragroup changes). The

Mann-Whitney was performed to compare differences between the baseline values and across treatment groups (intergroup changes) Significance was set at P-value < 0.05.

RESULTS

Non-compliance was verified in nine patients, five from the control group and four from the camu-camu-treated group, so they were excluded from the study. Thus, thirty six patients ended the study, 18 in each group. The causes of non-compliance were lack of adaptation to the taste of the juice, no follow-up treatment, and non-attendance in the final assessment.

The number of male and female participants differed between both groups ($p=0.018$). There were more female than male patients in control group while in the treated group the number of male patients was higher (Table 1). Regarding intra-group changes, camu-camu group decreased significantly WC (0.006) and uric acid (0.008), whereas in the control group there was an increase in HDL-cholesterol (0.008) and in DBP (0.002), and a decrease in the Catelli index I and II (0.01) and in hemoglobin (0.05) levels (Table 1). Both the camu-camu treated group and controls subjects had a significant decrease in BMI (0.012 and 0.025, respectively) and a significant increase in glucose levels (0.003 and 0.015, respectively) (Table 1). Statistically significant intergroup changes were verified in SBP, HDL-cholesterol and Castelli I index (Table 1). The camu-camu treated group showed significant increased values in DBP (0.022) and HOMA-IR (0.022) at the baseline when compared to controls (Table 1). Statistically significant differences were not verified in insulin levels, hsCRP, Homocysteine, triacylglycerol, and total and LDL-cholesterol at the baseline between the groups or in intra-group or inter-groups analysis (Table 1).

DISCUSSION

The main findings of this study were the decrease in BMI, WC and UA in patients with MetS who ingested camu-camu juice during 60 days.

This study is in agreement with a previous report [7], in which the intake of camu-camu juice not only decreased body weight and BMI in obese subjects, but also visceral fat depot which was shown by lower values of WC after 60 d of intervention. Of note, in the present study both groups showed decrease in BMI, however only the camu-camu group reduced WC. Other study also found weight loss in diet-induced obese mice [3]. Anê *et al.* [3] verified that camu camu prevented obesity and metabolic syndrome in diet-induced obese mice through. The prevention of visceral and liver fat deposition was accomplished through brown adipose tissue activation and increased energy expenditure, mechanisms which were

suggested to dependent on the gut microbiota. Of note, colonization of germ-free mice with the fecal microbiota of camu camu treated mice recapitulated the metabolic benefits seen in conventional mice treated with camu camu.

Uric acid is an important parameter in MetS and its decrease could prevent cardiovascular risks and MetS complications [8]. The findings of the current study is in agreement with the result obtained by Gonçalves *et al.* [4] who also verified significantly lower levels of UA in type 1 diabetic rats supplemented with frozen pulp extracts of camu-camu compared with a diabetic group. We have previously reported that MS group of patients presented higher uric acid concentration compared with a healthy control group and that the uric acid had a positive significant correlation with waist circumference, fasting glucose, fasting insulin and HOMA, and a negative significant correlation with HDL-cholesterol [9].

In a large multicenter cross-sectional longitudinal study with 3.8 years of follow up, individuals with high cardiovascular risk and elevated serum uric acid concentrations were associated with increased prevalence and incidence of MetS and there is also evidence to suggest that elevated UA concentrations are associated with IR, although the precise mechanism remains unclear [10].

There were no differences in DBP in camu-camu group. Fujita *et al.* [11] studied the potential of camu-camu powder anti-hypertension properties using an in vitro enzyme assay model. The camu-camu powder did not exhibit angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibition, which could control hypertension. However, when camu-camu powder was added to a soymilk fermented with *L. plantarum* and *L. helveticus*, the inhibition of ACE was higher than in the control group, indicating a synergism of compounds present in camu-camu and soymilk fermented combination [12]. Therefore, camu-camu could be utilized in combination with other foods to improve its effects in individuals with MetS.

Unexpectedly, fasting glucose increased in the camu-camu group at the end of this study. In contrast, although not statistically significant, camu-camu group showed lower HOMA-IR levels after 60 d and decreases WC and BMI. Camu-camu has low caloric content and has been suggested for diabetic patients with obesity [13]. Besides being a low caloric fruit, it possesses low sugar content [14], what makes unlikely that camu-camu as the responsible for the higher levels of fasting glucose. In addition, *in vitro* studies have demonstrated that dried camu-camu inhibited α -amylase and α -glucosidase [11,15]. These enzymes are directly associated to soluble carbohydrate digestion, and their inhibition help the reduction in postprandial blood glucose levels, which may result in an efficient way to manage the early stages of type 2 diabetes and its complications [11].

The following limitations have to be considered in the present study: firstly, the small number of participants; secondly, the presence of a higher number of male patients in the camu-camu group because a cross-sectional Korean study observed that higher intake of vitamin C and fruits may protect against MetS in women, but not in men [16]; thirdly, there was no placebo group although a similar design has been used in a previous study with cranberry juice and individuals with MetS [17]. Nevertheless, strengths of this study may be cited, as follows: 1st) Camu-camu pulp was used without any drying process which could result in losses of active compounds; 2nd) We tried to assure that the patients did not present any disease which could interfere with the results.

CONCLUSION

Camu-camu juice contributed to prevent metabolic effects of MetS by reducing BMI, WC and UA. These results indicate that camu-camu could be considered a potential contributor to decrease adiposity and uric acid in patients with MetS.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The camu-camu frozen pulps were donated by PolpaSul.

We would like to thank the MetS participants of our study.

REFERENCES

- 1 Aballay LR, Eynard AR, Díaz MP, Navarro A, Muñoz SE. Overweight and obesity: their relationship to metabolic syndrome, cardiovascular disease, and cancer in South America. *Nutrition Reviews* 71: 168-179 (2013).
- 2 Abete I, Goyenechea E, Zulet MA, Martínez JA. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2011 (suppl 2); 21: B1-B15.
- 3 Anhe FF, Nachbar RT, Varin TV, Trottier J, Dudonné S, Barz ML, Feutry P, Pilon G, Barbier O, Desjardins Y, Roy D, Marette A. Treatment with camu-camu (*Myrciaria dubia*) prevents obesity by altering the gut microbiota and increasing energy expenditure in diet-induced obese mice. *Gut* 2018; 0: 1-12

- 4 Gonçalves AESS, Lellis-Santos C, Curi R, Lajolo FM, Genovese MI. Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of type 1 diabetic rats. *Food Research International* 2014; 64: 1-8.
- 5 Executive summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (adult treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486– 97.
- 6 Castelli WP, Abbott RD, McNamara PM. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* 1983; 67: 730-4.
- 7 Nascimento OV, Boleti APA, Schwertz M, Lima ES. Dietary supplementation with camu-camu and continuous exercises in the treatment of obesity. *Revista de Nutrição* 2018; 31: 25-33.
- 8 Simão ANC, Lozovoy MAB, Dichi I. The uric acid metabolism pathway as a therapeutic target in hyperuricemia related to metabolic syndrome. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 2012; 16: 1175-87.
- 9 Simão ANC, Dichi JB, Barbosa DS, Cecchini R, Dichi I. Influence of uric acid and γ -glutamyltransferase on total antioxidant capacity and oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Nutrition* 2008; 24, 675-81.
- 10 Babio N, Martínez-González MA, Estruch R, Wärnberg J, Recondo J, Ortega-Calvo M et al.. Associations between serum uric acid concentrations and metabolic syndrome and its components in the PREDIMED study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2015; 25: 173-80.
- 11 Fujita A, Sarkar D, Wu S, Kennelly E, Shetty K, Genovese MI. Evaluation of phenolic-linked bioactive of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International* 2015; 77: 194-203.
- 12 Fujita A, Sarkar D, Genovese MI, Shetty K. Improving anti-hyperglycemic and anti-hypertensive bioactive properties of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) using lactic acid bacterial fermentation. *Process Biochemistry* 2017; 59: 133-140.
- 13 Andrade Júnior MC, Andrade JS. Amazonian fruits: an overview of nutrients, calories and use in metabolic disorders. *Food and Nutrition Sciences* 2014; 5: 1692-703.
- 14 Maeda RN, Pantoja L, Yuyama LKO, Char JM. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2006; 26: 70-74.

- 15 Azevêdo JCS, Fujita A, Oliveira EL, Genovese MI, Correia RTP. Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) industrial residue: a bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. *Food Research International* 2014; 62:934-40.
- 16 Park S, Ham JO, Lee BK. Effects of total vitamin A, vitamin C, and fruits intake on risk for metabolic syndrome in Korean women and men. *Nutrition* 2015; 31: 111-18.
- 17 Simão TNC, Lozovoy MAB, Simão ANC, Oliveira SR, Venturini D, Morimoto HK, Miglioranza LHS, Dichi I. Reduced-energy cranberry juice increases folic acid and adiponectin and reduces homocysteine and oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 2013; 110: 1885-94.

Table 1 Evaluation of anthropometric, metabolic parameters and inflammatory biomarkers at the baseline and after 60 days of supplementation with Camu-camu juice.

	Controls (n=18)			Camu-camu (n=18)			p _{AXB}
	T0 ^A	T60	P intra-group	T0 ^B	T60	P intra-group	
Age (years)	56 (47-67)	-	-	57 (47-69)	-	-	0.864
Sex (F/M)	14 (77.8)/4 (22.2)	-	-	7 (38.9)/11 (61.1)	-	-	0.018
BMI (Kg/cm ²)	29.41 (26.19-31.25)	28.91 (26.67-31.64)	0.025	30.39 (28.83-33.21)	29.62 (28.26-33.66)	0.012	0.443
WC (cm)	99.95 (94.40-104.00)	99.50 (94.00-106.00)	0.276	107.75 (98.00-113.30)	104.00 (95.00-111.00)	0.006	0.091
SBP (mmHg) *	125 (120-130)	121 (118-129)	0.925	125 (117-141)	125 (110-140)	0.133	0.696
DBP (mmHg)	72 (64-78)	80 (74-86)	0.002	80 (76-86)	80 (75-94)	0.572	0.022
Insulin (mg/dL)	10.05 (7.40-13.00)	10.50 (6.20-20.00)	0.396	13.50 (9.10-19.40)	11.35 (4.60-14.00)	0.177	0.064
Glucose (mg/dL)	105.00 (91.00-116.00)	114.50 (96.00-126.00)	0.015	105.00 (98.00-120.00)	119.00 (100.00-127.00)	0.003	0.563
HOMA IR	48.57 (32.36-58.27)	62.56 (26.22-90.53)	0.286	74.88 (40.04-102.52)	70.56 (21.69-84.00)	0.286	0.022
hsCRP (mg/dL)	2.40 (1.40-5.80)	1.85 (1.20-4.40)	0.162	1.80 (1.20-3.45)	2.80 (1.40-4.40)	0.138	0.355
Homocysteine (mg/dL)	10.21 (7.03-12.76)	9.88 (8.47-11.66)	0.231	9.06 (8.33-13.25)	8.13 (7.33-13.94)	0.215	1.00
Triglycerides (mg/dL)	120.00 (73.00-149.00)	101.00 (81.00-164.00)	0.214	149.00 (93.00-174.00)	138.00 (108.00-220.00)	0.948	0.214
Total cholesterol (mg/dL)	188.50 (171.00-202.00)	184.50 (163.00-210.00)	0.663	162.00 (136.00-194.00)	164.50 (137.00-184.00)	0.616	0.097
LDL (mg/dL)	109.70 (102.40-129.20)	109.10 (75.20-132.20)	0.981	84.60 (53.80-113.40)	91.90 (62.40-114.60)	0.913	0.118
HDL (mg/dL) *	50.50 (41.00-60.00)	57.00 (42.00-61.00)	0.008	39.00 (36.00-47.00)	42.50 (35.00-48.00)	0.467	0.059
Castelli I *	3.60 (2.96-4.37)	3.06 (2.76-3.97)	0.010	4.25 (3.11-4.97)	3.87 (3.51-4.91)	0.913	0.462

Castelli II	2.07 (1.64-2.80)	1.71 (1.31-2.73)	0.010	2.28 (1.41-3.05)	2.26 (1.79-2.81)	0.943	0.815
Hemoglobin (g/dL)	14.00 (13.25-14.75)	13.30 (12.70-14.30)	0.054	14.10 (13.50-15.20)	14.10 (13.15-15.05)	0.162	0.606
Uric acid (mg/dL)	4.70 (3.80-5.40)	4.70 (3.90-5.50)	0.365	5.45 (4.00-6.50)	4.75 (3.80-5.60)	0.008	0.171

Data are shown in median and interquartile range (25% -75%). The Wilcoxon test was performed to verify changes from baseline (intra-group changes). The Mann-Whitney test was performed to compare differences between the baseline values and across treatment groups (inter-group changes). BMI, Body Mass Index; WC, Waist Circumference; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HOMA-IR, homeostatic model assessment- insulin resistance; hsCRP, high sensitive C reactive protein; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; ESR, erythrocyte sedimentation rate.

*Inter – inter-group changes; ^{AxB} – differences between baselines.

6 CONCLUSÃO

O camu-camu apresentou significativos teores de compostos bioativos, como ácido ascórbico e polifenóis, podendo ser utilizado como fonte de renda para produtores e como ingrediente na indústria de alimentos, porém como produto ainda precisa ser melhor explorado para se encontrar formas de consumi-lo.

Os pacientes com SM que consumiram o camu-camu tiveram redução no IMC, CA e ácido úrico plasmático. Portanto, o camu-camu contribui para melhora de alguns componentes da SM.

REFERÊNCIAS

- ABALLAY, L. R. et al. Overweight and obesity: their relationship to metabolic syndrome, cardiovascular disease, and cancer in South America. **Nutrition Reviews**, v. 7, n. 3, p. 168-179, 2013.
- ABETE, I. et al. Obesity and metabolic syndrome: potencial benefit from specific nutritional components. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 21.p. B1-B15, 2011.
- AKABERI, M.; HOSSEINZADEH, H. Grapes (*Vitis vinifera*) as a potential candidate for therapy of the metabolic syndrome. **Phytotherapy Research**, v. 30, p. 540-556, 2016.
- ALAM, M. A. et al. Effects of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. **Adv. Nutr.**, v. 5, p. 404-417,2014.
- ALEZANDRO, M. R.; GRANATO, D.; GENOVESE, M. I. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, v. 54, p. 650-659, 2013.
- AMIOT, M. J.; RIVA, C.; VINET, A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. **Obesity Reviews**, v. 17, p. 573-586, 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC**. Washington, v. 2, p. 16-17, 1997.
- BABIO, N. et al. Associations between serum uric acid concentrations and metabolic syndrome and its components in the PREMED study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 25, p. 173-180, 2015.
- BARADARAN A, NASRI H, RAFIEIAN-KOPAEI M. Oxidative stress and hypertension: possibility of hypertension therapy with antioxidants. **Journal of Research of Medical Sciences**, v. 19, n.4, p. 358-67, 2014.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BORGES et al. Uma abordagem sobre métodos analíticos paa determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 20, 2011.
- CATENA, C. et al. Elevated homocysteine levels are associated with the metabolic syndrome and cardiovascular events in hypertensive patients. **American Journal of Hypertension**, v. 28, n. 7, p. 943-950, 2015.

CHARRADI K. et al. High-fat diet induced an oxidative stress in white adipose tissue and disturbed plasma transition metals in rat: prevention by grape seed and skin extract. **Journal of Physiology Science**, v. 63, p. 445–455, 2013a.

CHARRADI K. et al. Grape seed and skin extract mitigates heart and liver oxidative damage induced by a high-fat diet in the rat: gender dependency. **Can J Physiol Pharm.**, v. 91, p. 1076–1085, 2013b

CHEN, S. et al. Relationships between inflammation, adiponectin, and oxidative stress in metabolic syndrome. **PLOS One**, v. 7, n. 9, p. 1-5, 2012.

CHERNIACK, E. P. Polyphenols: planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome. **Nutrition**, n. 27, p. 617-623, 2011.

CHIRINOS, R. et al. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**. v. 120, p. 1019-1024, 2010.

Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**, v. 285, n. 19, p. 2486-2497, 2001.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, antioxidant, and nutrition. **Nutrition**, n. 18, p. 872-879, oct. 2002.

FARBER, J. L. Mechanisms of cells injury by activated oxygen species. **Environmental Health Perspectives**, n. 102, p. 17-24, 1994.

FRACASSETTI, D. et al. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry**. v. 139, p. 578-588, 2013.

FRAGOSO, M. F. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) feeding attenuates dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**. v. 58, p. 68-76, 2013.

GRUNDY, S. M. Metabolic syndrome Update. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 26, n. 4, p. 364-373, 2016.

GUARENTE, L. Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome. **Nature**, v. 444, p. 868-874, 2006.

INOUE, T. et al. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**. v. 52, p. 127-132, 2008.

INSTITUTO Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). **Cultivo do camu-camu**. Disponível em: < <https://www.inpa.gov.br/cpca/areas/camu-camu.html>>. Acesso em: 11 jun. 2014.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome**, 2006.

Kallaur AP, Oliveira SR, Reiche EMV. The role of genetic polymorphisms in oxidative stress. In.: Dichi J, Breganó JW, Simão ANC, Cecchini R. **Role of oxidative stress in chronic diseases**, CRC Press: New York, p. 7-44, 2014.

LANGLEY P. C. et al. Antioxidant and associated capacities of camu-camu (*Myrciaria dubia*): a systematic review. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 21, n. 1, p. 8-14, 2015.

LI, H. et al. Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. **LWT**, n. 41, p. 385-390, 2008.

MURILLO, G. Zapotin, a phytochemical present in a mexican fruit, prevents colon carcinogenesis. **Nutrition and Cancer**. v. 51, n. 1, p. 28-37, 2007.

NASCIMENTO, O. V. et al. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 85, n. 1, p. 355-363, 2013.

NIMSE S. B., PAL D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 5, p. 27986-28006, 2015.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PANDE, G.; AKOH, C. Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia-grown pomegranate cultivars. **J. Agric. Food Chem.**, n.57, p. 9427-9436, 2009

PEREIRA, A. C. S. **qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. 2009. 120 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Essex, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008.

PRIOR, R. L. et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n. 7, p. 2686-2693, 1998.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, p. 1595-1607, 1988.

REAVEN, G. M. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6, p. 1237-1247, 2006.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**. v. 109, p. 883-890, 2008.

RIBEIRO, S. I.; MOTA, M. G. C.; CORRÊA, M. L. P. Recomendações para o cultivo do camucamuzeiro no Estado do Pará. **Circular Técnica**, Embrapa, Belém (PA), 2002.

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SILVA, F. C. et al. Antigenotoxic effect of acute, subacute and chronic treatments with Amazonian camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice in mice blood cells. **Food and Chemical Toxicology**. v. 50, p. 2275-2281, 2012.

TEZCAN, F. et al. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. **Food Chemistry**, n. 115, p. 873-877, 2009.

UEDA, H. et al. Aldose reductase inhibitors from the leaves of *Myrciaria dubia* (H.B. & K.) McVaugh. **Phytochemistry**. v. 11, p. 652-656, 2004.

URQUIZA-MARTÍNEZ, M. V.; NAVARRO, B. F. Antioxidant capacity of foods. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2016.

UTTARA, B. et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. **Current Neuropharmacology**, n. 7, p. 65-74, 2009.

VIDIGAL, M. C. T. R. et al. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). **Food Research International**. v. 44, p. 1988-1996, 2011.

VILLANUEVA-TIBURCIO, J. E.; CONDEZO-HOYOS, L. A.; ASQUIERI, E. R. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, em la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh). v. 30, p. 151-160, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication, report of a WHO Consultation, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Questionário aplicado aos pacientes com síndrome metabólica.**Projeto Camu Camu – Grupo intervenção/ T0**

Nome:		
Data:	Telefone:	
Idade:	Data de nascimento:	
Etnia	<input type="checkbox"/> Caucasiano	<input type="checkbox"/> Não Caucasiano <input type="checkbox"/> Oriental
Outras Doenças:		
Tabagismo	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim Quantos/dia:
Diabetes	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
HAS	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Alcoolismo	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim
Depressão	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim Psiquiatra?
Atividade Física	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim Frequência:
Peso:	Altura:	IMC:
PAS/PAD:	Circunferência abdominal:	
Uso de Medicamentos:		

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“Avaliação da Atividade Antioxidante do Camu-camu (Myrciaria dúbia (H. B. K.)McVaugh) e dos seus Efeitos Metabólicos, Imunomoduladores e de Estresse Oxidativo em Indivíduos com Síndrome Metabólica”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa **“Avaliação da Atividade Antioxidante do Camu-camu (Myrciaria dúbia (H. B. K.) McVaugh) e dos seus Efeitos Metabólicos, Imunomoduladores e de Estresse Oxidativo em Indivíduos com Síndrome Metabólica”**, a ser realizada em **“Londrina”**. O objetivo da pesquisa é **“Avaliar os efeitos metabólicos (IMC, circunferência Abdominal, pressão arterial, perfis lipídico e glicêmico), imunomoduladores (marcadores inflamatórios) e de estresse oxidativo em indivíduos com síndrome metabólica”**. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma, respondendo um questionário sobre hábitos alimentares e de vida, realizando aferição de peso, altura, circunferência abdominal e pressão arterial, com coleta de amostras de sangue no início e final da pesquisa e consumindo um suco elaborado com a frutas camu-camu e stevisídeo por um período de 60 dias.

Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o(a) senhor(a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta e futuras pesquisas e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Os benefícios esperados são diminuição da circunferência abdominal, controle da pressão arterial, melhora dos perfis lipídicos e glicêmicos, dos marcadores inflamatórios da síndrome metabólica e do estresse oxidativo resultante desta síndrome. Quanto aos riscos, por se tratar de frutas já consumidas e encontradas no

mercado não há a existência de risco quanto a ingestão, porém os participantes podem não aceitar devido a preferências de sabor. Riscos associados com a coleta de sangue incluem: dor, hematoma, ou outro desconforto no local da coleta. Raramente desmaio ou infecções no local de punção podem ocorrer.

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar Lúcia Helena da Silva Miglioranza, , Universidade Estadual de Londrina - Centro de Ciências Agrárias Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos Rod. Celso Garcia Cid (PR 445), Km 380 - Caixa Postal 10.011 86057-970- Londrina- PR- Brasil, 3371-4984,luciah@uel.br, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

Londrina, ___ de _____ de 201__.

Pesquisador Responsável

RG::_____

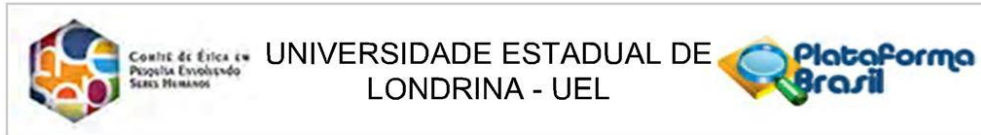
_____ (NOME POR EXTENSO DO SUJEITO DE PESQUISA), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar voluntariamente da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica):_____

Data:_____

ANEXOS

ANEXO A – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da atividade antioxidante do Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) e dos seus efeitos metabólicos, imunomoduladores e de estresse oxidativo em indivíduos com síndrome metabólica.

Pesquisador: Lucia Helena da Silva Miglioranza

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53114915.8.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.510.312

Apresentação do Projeto:

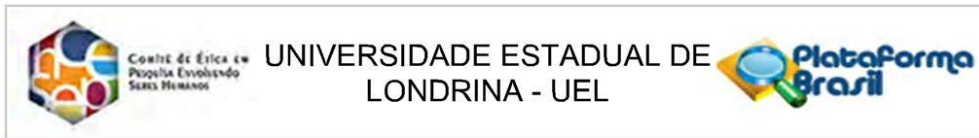
Será realizado um estudo clínico aleatorizado com 60 pacientes com diagnóstico de síndrome metabólica, de acordo com os critérios ATP III (NCEP), atendidos em Unidades Básicas de Saúde do município de Londrina-PR. Serão excluídos pacientes que apresentem doenças renais, hepáticas, gastrointestinais e neoplásicas ou que fazem uso de medicamentos hipoglicemiantes e hipolipemiantes. Aqueles que fizerem uso de antihipertensivos continuarão com sua medicação habitual. Os pacientes serão divididos aleatoriamente em dois grupos de 30 indivíduos cada. O primeiro grupo receberá orientações sobre manutenção dos hábitos alimentares e de vida e o segundo grupo receberá a mesma orientação associada de ingestão diária de 80 g de suco integral de camu-camu. A quantidade diária de suco foi determinada de acordo com a porção individual de consumo proposta a partir de ensaios prévios. As coletas de sangue, dados antropométricos e aferição de pressão arterial serão realizadas antes do início do consumo do fruto de camu-camu e após 60 dias de sua ingestão.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito de camu-camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh em marcadores metabólicos de

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.510.312

indivíduos com Síndrome Metabólica.

Objetivo Secundário:

Avaliar a atividade antioxidante do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh) e seus efeitos metabólicos, imunomoduladores e de estresse oxidativo em indivíduos com síndrome metabólica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A pesquisadora afirma que não há riscos associados à ingestão de camu-camu, porém os participantes podem não aceitar devido a preferências de sabor. Riscos associados com a coleta de sangue incluem: dor, hematoma, ou outro desconforto no local da coleta. Raramente desmaio ou infecções no local de punção podem ocorrer.

Benefícios:

Redução do peso corporal, da gordura visceral e dos níveis de glicose, colesterol total, triglicerídeos, LDLcolesterol e insulina sanguíneos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa relevante.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora já havia apresentado os termos adequados, com exceção da autorização da instituição co-participante para acesso aos possíveis participantes da pesquisa.

Esta declaração foi agora apresentada, porém datada de 2014.

Tendo em vista que o título do estudo que consta na autorização é o mesmo do presente projeto, é de inteira responsabilidade da equipe de pesquisa, possíveis questionamentos da co-participante em relação ao acesso aos seus dados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

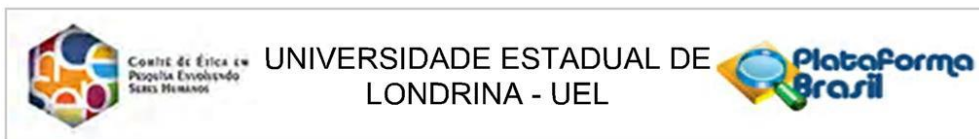
Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_541509.pdf	03/04/2016 21:57:48		Aceito

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.510.312

Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutorizacaoAMS.pdf	03/04/2016 21:57:12	Lucia Helena da Silva Miglioranza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	03/04/2016 21:56:26	Lucia Helena da Silva Miglioranza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetocamucamu.doc	27/01/2016 03:27:08	Lucia Helena da Silva Miglioranza	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoPrado.pdf	21/01/2016 15:42:36	Lucia Helena da Silva Miglioranza	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	recursos_PROAP_Carolina_Prado.pdf	14/01/2016 01:06:03	Lucia Helena da Silva Miglioranza	Aceito
Brochura Pesquisa	CV Miglioranza.pdf	22/06/2015 17:51:00		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

LONDRINA, 22 de Abril de 2016

Assinado por:
Alexandrina Aparecida Maciel Cardelli
(Coordenador)

Endereço: LABESC - Sala 14
Bairro: Campus Universitário
UF: PR **Município:** LONDRINA **CEP:** 86.057-970
Telefone: (43)3371-5455 **E-mail:** cep268@uel.br