



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

**JACQUELINE CARVALHO PEIXOTO**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE AÇAÍ  
LIOFILIZADO PARA O CONTROLE DO ESTRESSE MUSCULAR E OXIDATIVO  
E ATENUAÇÃO DE INDICADORES CARDIORRESPIRATÓRIOS E DE  
PERCEPÇÃO DE ESFORÇO EM ATLETAS**

RIO DE JANEIRO

2014

Jacqueline Carvalho Peixoto

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA ENERGÉTICA FUNCIONAL  
À BASE DE AÇAÍ LIOFILIZADO PARA O CONTROLE DO ESTRESSE  
MUSCULAR, OXIDATIVO E ATENUAÇÃO DE INDICADORES  
CARDIORRESPIRATÓRIOS E DE PERCEPÇÃO DE ESFORÇO EM ATLETAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Mirian Ribeiro Leite Moura

Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lúcia Maria Jaeger de Carvalho

Rio de Janeiro

2014

**P379d** Peixoto, Jacqueline Carvalho.

Desenvolvimento de bebida energética funcional à base de açaí liofilizado para o controle do estresse muscular e oxidativo e atenuação de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção do esforço em atletas/ Jacqueline Carvalho Peixoto; orientador Mirian Ribeiro Leite Moura; co-orientador Lúcia Maria Jaeger de Carvalho. – Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2014. xxix, 214f. : il. ; 30cm.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas– Faculdade de Farmácia ) –  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Exercício. 2. Injúria. 3. Fadiga. 4. Carboidratos. 5. Antioxidante.  
6. Modulação. I. Moura, Mirian Ribeiro Leite. II. Carvalho, Lúcia Maria Jaeger.  
III. Título.

**CDD 664.07**

**Jacqueline Carvalho Peixoto**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FUNCIONAL À BASE DE AÇAÍ LIOFILIZADO  
PARA O CONTROLE DO ESTRESSE MUSCULAR E OXIDATIVO  
E ATENUAÇÃO DE INDICADORES CARDIORRESPIRATÓRIOS E DE  
PERCEPÇÃO DE ESFORÇO EM ATLETAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em:

Orientadores:



Professora Doutora Mirian Ribeiro Leite Moura  
Faculdade de Farmácia – UFRJ




Professora Doutora Lucia Maria Jaeger de Carvalho  
Faculdade de Farmácia – UFRJ

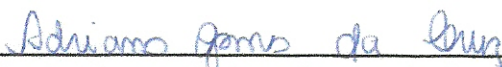
Banca examinadora:



Professor Doutor Pablo Christiano Barboza Lollo  
Faculdade de Educação – Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD



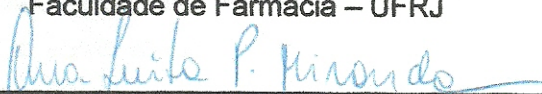
Professor Doutor Wallace David Monteiro  
Instituto de Educação Física e Desporto – UERJ



Professor Doutor Adriano Gomes da Cruz  
Instituto Federal do Rio de Janeiro – IFRJ



Professora Doutora Gisela Maria Dellamora Ortiz (Revisor)  
Faculdade de Farmácia – UFRJ



Professora Doutora Ana Luísa Palhares de Miranda  
Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – UFRJ

PEIXOTO, Jacqueline Carvalho.

Desenvolvimento de Bebida Energética Funcional à Base de Açaí Liofilizado para o Controle do Estresse Muscular e Oxidativo e Atenuação de Indicadores Cardiorrespiratórios e de Percepção do Esforço em Atletas. Rio de Janeiro, 2014. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas.) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2014.

## RESUMO

O objetivo do estudo foi analisar a eficácia da suplementação aguda de bebidas energéticas a base de açaí liofilizado (AD e AED) no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo, antes e após corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$  (estudo piloto) e antes e após teste incremental em rampa a 90% do  $VO_{2máx}$  (estudo controlado). Na condição AED foi também analisado o controle de indicadores de resposta cardiorrespiratória e de percepção de esforço antes e após o teste em rampa. A proposta do estudo foi verificar o potencial das bebidas na redução do estresse muscular e oxidativo, na melhora da tolerância ao esforço e no aumento do tempo de exaustão em resposta aos protocolos de exercício de alta intensidade. Vinte oito atletas ( $n=28$ ) do sexo masculino (19 a 49 anos) participaram do estudo (ensaio piloto:  $n=14$  e ensaio controlado:  $n=14$ ). No ensaio piloto, os indivíduos mantiveram a dieta habitual e consumiram 300 mL de bebida controle (CD) e de açaí (AD), antes de executarem um teste de corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$ . No ensaio controlado, os atletas realizaram um teste máximo incremental em rampa para determinar a  $FC_{máx}$  e  $VO_{2máx}$  e dois protocolos incrementais em rampa a 90%  $VO_{2máx}$  até a exaustão, com (AED) e sem a bebida a base de açaí (WAED-condição controle). Amostras de sangue foram coletadas antes e após os testes de corrida para verificar a redução em marcadores de injúria muscular, estresse oxidativo e de respostas imunológica, cardiorrespiratória e de percepção do esforço. Os resultados mostraram que os testes induziram estresse muscular e oxidativo ( $p \leq 0,05$ ) e alteraram a resposta de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção de esforço com AED ( $p \leq 0,01$ ). Contudo, AD e AED foram eficientes no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo. No ensaio piloto houve redução significativa da amônia e da atividade da glutatona peroxidase ( $p \leq 0,05$ ) e no ensaio controlado da amônia, creatinina, MDA e linfócitos ( $p \leq 0,05$ ). AED também aumentou o tempo de exaustão e a tolerância no exercício em rampa, atenuando a resposta de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção de esforço ( $p \leq 0,01$ ). Os resultados sugeriram que as bebidas à base de açaí controlaram o estresse muscular e oxidativo nos dois ensaios e aumentou a tolerância ao exercício de alta intensidade na condição AED, o que conferiu grau de recomendação do suplemento e sua classificação como bebida funcional para atletas.

**Palavras chave:** exercício, injúria, fadiga, bebida, antioxidante.

Development of a Functional Energy Drink Based on Freeze-dried Açai for Muscle and Oxidative Stress Control and Attenuation of the Cardiorespiratory and Perceived Exertion Indicators in Athletes. Rio de Janeiro, 2014. Thesis (Doctor's Degree in Pharmaceutical Sciences), School of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2014.

## **ABSTRACT**

The objective of this study was to analyze the efficiency of acute supplementation of AD and AED drinks on the control of muscle injury and oxidative stress biomarkers before and after field running at 70%  $VO_{2max}$  and also on indicators of cardiorespiratory response and perceived exertion in incremental ramp test at 90%  $VO_{2max}$ . The purpose of the study was to assess the potential of the drinks on muscle and oxidative stress modulation, improvement of tolerance to exercise and increasing the time to exhaustion during high intensity exercise. Twenty-eight elite male athletes (aged 19- 49 years) participated on the study and were divided into two groups of fourteen athletes each (n=14, pilot test; n=14, controlled test). During the pilot test, the individuals maintained their habitual diet and consumed 300 mL of control drink (CD) and açai drink (AD), before performing a field running test (3.2 km) at 70%  $VO_{2max}$ . For the controlled test, the athletes performed a maximum incremental ramp test to determine maximum  $FC_{max}$  and  $VO_{2max}$ , and two ramp incremental protocols at 90%  $VO_{2max}$  until exhaustion, in WAED and AED conditions. Blood samples were collected before and after the maximum exercise protocols to assess the modulation of muscle injury and oxidative stress biomarkers and on the cardiorespiratory and exertion perception indicators associated to fatigue. The results showed that the tests induced muscle and oxidative stress and modified the response of cardiorespiratory and perceived exertion indicators ( $p \leq 0.01$ ). However, AD and AED were efficient in controlling muscle and oxidative stress, by the reduction of ammonia and GPx (pilot trial,  $p \leq 0.05$ ) and ammonia, creatinine, MDA and lymphocytes (controlled trial,  $p \leq 0.05$ ). In addition, AED increased the time to exhaustion and exercise tolerance by attenuating the cardiorespiratory response and perceived exertion indicators ( $p \leq 0.01$ ). The results suggest that the açai energy drink was efficient in controlling the muscle and oxidative stress biomarkers and increased the tolerance to high intensity exercise in AED condition, which suggests its recommendation as supplement and its classification as a functional drink for athletes.

Keywords: exercise, injury, fatigue, drink, antioxidant.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus e meus Mentores espirituais, obrigada pela iluminação, paz e discernimento concedidos a mim nos momentos mais difíceis...

Aos meus queridos pais, meus amores, Vilma e Roberto, que sempre me apoiaram, ouviram minha lamúrias, me divertiram muitas vezes e não deixaram que eu caísse na tristeza pelas dificuldades e horas difíceis que passei... mesmo com a pressão e o estresse diário que vivi, no trabalho e durante a pesquisa ao longo desses anos sempre apostaram e confiaram em meu progresso, competência e coragem, além de me ensinarem a não desistir diante dos desafios. Meus agradecimentos eternos!

Ao meu marido que exercitou a paciência e a tolerância muitas vezes e não desistiu de mim em todos estes anos de pesquisa e trabalho, muitas vezes ausente e sob estresse físico e psicológico. Muito obrigada por tudo!

À minha “pet querida” Diana, carinhosa e amiga, que sempre me deu muita paz e alegria!

Aos meus queridos amigos, Alessandra Tabanela (Universidade Castelo Branco), Roberto Marcílio (UNICAMP), Janclei Pereira Coutinho (UNICAMP), que sempre me ajudaram nas horas em que precisei e nunca negaram apoio; ao Professor Felipe Cunha (UERJ) pela orientação nos testes físicos e o constante apoio científico. Obrigada por tudo...

Aos parceiros que apostaram na pesquisa e me deram grande apoio para a realização dos testes: Coronel Paulo Gonzaga (UNIFA-RJ), Comandante Sylvio Farias, Tenente Miranda, Sargento Silva (CEFAN/Marinha RJ) e Professor Paulo (Projeto Lançar-se para o Futuro, Secretaria de Esportes e Lazer),

Aos Professores Paulo Farinatti e Wallace Monteiro pelas ideias e o apoio na realização dos testes físicos (LABSAU/IEFD/UERJ).

Ao Professor Raul (LABSAU/IEFD/UERJ), pelo apoio na avaliação dos atletas.

Às farmacêuticas da FF/UFRJ Lara Smirdele pelo apoio no início de meu trabalho, Patrícia do LACMAC, Cláudia, Camila e Paulinha (LabCBroM) pelo apoio e cooperação nos momentos em que precisei.

Aos alunos de iniciação científica Victor Hugo, Elaine (Universidade Castelo Branco), Rebeca Catanhede, Stephanie Kroll e Pedro (LabCBroM), que ajudaram nos ensaios.

Às amigas Aline Baroni (Sinergia) e Andréa Bittencourt (Universidade Castelo Branco), pela compreensão em todos estes anos de estudo. À Daniele Osório que se engajou no meio do trabalho e me apoiou durante às análises de atividade antioxidante... o meu muito obrigada!

À querida Professora D<sup>ra</sup> Lúcia Maria Jaeger de Carvalho (Laboratório de Análise Instrumental e Tecnologia de Alimentos/FF/INJC/UFRJ), pelo incentivo e apoio científico. Obrigada pela confiança depositada em mim e ajuda quando precisei!

À Professora D<sup>ra</sup> Priscila Vanessa Finotelli, que me ajudou e apoiou no início dessa jornada. As Professoras Dr<sup>as</sup> Gisela Maria Dellamora Ortiz e Ana Luísa Palhares Miranda (Faculdade de Farmácia/UFRJ), pelo incentivo e orientação. Meus sinceros agradecimentos...

Aos Professores Carlos, da UNIRIO (Departamento de Bioquímica) e Pablo Christiano B. Lollo, da UFGD (Departamento Educação Física), pelo apoio e incentivo.

À Professora D<sup>ra</sup> Sandra Gregório, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo apoio na análise sensorial e pelos momentos que passamos juntas nas viagens engrandecedoras e divertidas!

A todos os atletas que foram voluntários nos testes, que apostaram na bebida e que não desistiram, apesar das dificuldades do ensaio clínico. Aos atletas do pentatlo aeronáutico (UNIFA), Major Paulo, Capitão Eduardo, Tenentes André, Rafael e todos que participaram. Aos atletas do CEFAN/Marinha/RJ (Carriço, Wallace, Wagner e a todos os demais participantes do pentatlo naval, maratonistas e à equipe feminina do futebol e do pentatlo naval).

Aos jovens velocistas do Núcleo Olímpico do Projeto Lançar-se para o Futuro, atletas divertidos e dedicados, me apoiaram muito e confiaram no Projeto. Agradeço a todos. Sem vocês, nada disso teria acontecido !!



A todos os meus amigos e colegas de Trabalho do Hospital Municipal Miguel Couto, Ruth Dorfman, grande amiga e apoiadora. Minhas secretárias queridas Beth, Ângela, Marli e Cláudia, que sempre me incentivaram e me apoiaram. À toda equipe de colegas nutricionistas e Diretores do Hospital, obrigada pelo carinho e incentivo!

Aos colegas nutricionistas do HUPE/UERJ: Josiane, Kátia, Renato, Débora, Marília, Cinthia Tatiane, Milene, Amanda, Natália, pelo imenso apoio... Muito Obrigada!

À minha Orientadora, Professora D<sup>ra</sup> Mirian Moura, que apostou em mim de imediato, uma grande amiga e incentivadora, uma pessoa maravilhosa e paciente, que soube compreender meus desejos e limitações na FF, no início do Doutorado, e soube também me ajudar e apoiar em todos os momentos, nas análises, nas viagens e durante as discussões no Laboratório. Sempre me ensinou a enfrentar os árduos caminhos com muito bom senso e leveza. Nós aprendemos muitas coisas juntas: uma farmacêutica da área de alimentos e eu, nutricionista clínica. Que desafio! Muito obrigada, Professora, por sua tolerância e apoio incondicional! Você não me fez sofrer tanto, a parceria, o amor e os ensinamentos superaram todas as dificuldades!!! Muito Obrigada!

A todos aqueles que de alguma forma me ajudaram nesta desafiante empreitada (Solange (secretária), Andréa (secretária), Walber (zelador), Rubens (enteado), Sandra Sony (Diretora), Marisa (revisora)...

Meus sinceros agradecimentos!

**Desafio** foi a palavra mais propícia para definir a escolha e o local de realizar minha Tese de Doutorado! “Faculdade de Farmácia/UFRJ”, uma mistura da Ciência de Alimentos e Bioquímica Clínica... **Destino**: o reencontro inusitado com a minha querida orientadora e seu Laboratório, que um dia já precisei! Depois de dez anos, retomei o estudo com alimentos funcionais, minha paixão... Apesar de todas as dificuldades no início, aprendi muito na Faculdade de Farmácia e com os colegas de Laboratório: ser muito paciente! Análise de alimentos e ensaio com humanos requer paciência, perseverança, senso de organização, autocontrole, planejamento e disciplina... Achei que não me adaptaria à extensão de meu trabalho, mas fui forte... No Departamento de Produtos Naturais e Alimentos (FF/UFRJ) consegui me superar, progredir profissionalmente e como pesquisadora... Como pessoa, amadureci e me sensibilizei mais... Acho que me tornei mais exigente, mas uma pessoa melhor...

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha querida mãe, meu pai e meu marido, pelo apoio e força nas horas difíceis. Sem vocês, eu não conseguiria...

*“A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você”.*

Ralph W. Emerson

## EPÍGRAFE

*Ninguém mais pode decidir como você vai agir... Cada um deve marchar ao som de seu próprio tambor.*

Powell, J.

*Custa tanto ser uma pessoa plena, que muito poucos são aqueles que têm a luz ou a coragem de pagar o preço.  
É preciso abandonar por completo a busca da segurança e correr o risco de viver com os dois braços.  
É preciso abraçar o mundo como um amante.  
É preciso aceitar a dor como condição de existência.  
É preciso cortejar a dúvida e a escuridão como preço do conhecimento.  
É preciso ter uma vontade obstinada no conflito, mas também uma capacidade de aceitação total de cada consequência do viver e do morrer...*

Morris L West  
(As sandálias do pescador)

*“A causa da derrota, não está nos obstáculos,  
ou no rigor das circunstâncias, está na falta  
de determinação e desistência da própria pessoa”*

*“Buda, por meu querido Pai”*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>32</b>
2.1	AÇAÍ ( <i>Euterpe oleraceae</i> Martius): ORIGEM E DESCRIÇÃO BOTÂNICA .....	32
2.2	AÇAÍ: MERCADO E CONSUMO .....	36
2.3	AÇAÍ: COMPOSTOS BIOATIVOS .....	38
2.4	AÇAÍ: CONTEÚDO NUTRICIONAL .....	41
2.5	AÇAÍ: ANTOCIANINAS MAJORITÁRIAS .....	44
2.6	BIODISPONIBILIDADE DE POLIFENÓIS E ANTOCIANINAS.....	51
2.7	AÇAÍ: BENEFÍCIOS E ATIVIDADE FARMACOLÓGICA.....	55
2.8	RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO .....	57
2.9	ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO .....	63
2.10	ESTRESSE OXIDATIVO, EXERCÍCIO E INFLAMAÇÃO .....	71
2.11	ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA RESPIRATÓRIO .....	73
2.12	ESTRESSE MUSCULAR: PAPEL DOS CARBOIDRATOS E GLUTAMINA .....	75
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>78</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>79</b>
4.1	<b>Geral</b> .....	<b>79</b>
4.2	<b>Específicos</b> .....	<b>80</b>
<b>5</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>80</b>
<b>6</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>81</b>
6.1	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	81
6.1.1	<b>Metodologia de superfície de resposta</b> .....	81
6.1.2	<b>Planejamento estatístico da mistura</b> .....	81
6.2	PATENTE.....	82
6.3	METODOLOGIA ANALÍTICA .....	82
6.3.1	<b>Amostras: análises físicas, químicas</b> .....	82
6.3.2	<b>Análises microbiológicas das amostras de açaí</b> .....	82
6.3.3	<b>Análise da composição nutricional das polpas de açaí, açaí</b>	

	<b>liofilizado e da bebida energética à base de açaí .....</b>	<b>83</b>
6.3.3.1	Composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, carboidratos), perfil de aminoácidos, cafeína, ácidos graxos .....	83
6.3.3.2	Vitaminas A, E, C e teores minerais .....	84
6.3.3.3	Liofilização .....	84
<b>6.3.4</b>	<b>Conteúdo de Polifenóis e antocianinas totais e atividade antioxidante das amostras de açaí liofilizado e da bebida energética à base de açaí .....</b>	<b>85</b>
6.3.4.1	Determinação de fenólicos totais .....	85
6.3.4.2	Antocianinas totais monoméricas .....	86
6.3.4.3	Atividade antioxidante: DPPH .....	87
6.3.4.4	Atividade antioxidante: ORAC- Fluoresceína .....	87
6.4	FLUXOGRAMA DE ELABORAÇÃO DA BEBIDA E ENVAZE .....	89
6.5	ANÁLISE SENSORIAL .....	89
6.6	VIDA DE PRATELEIRA .....	92
6.7	ENSAIO CLÍNICO .....	92
<b>6.7.1</b>	<b>Avaliação antropométrica: características morfológicas dos atletas .....</b>	<b>93</b>
<b>6.7.2</b>	<b>Avaliação nutricional .....</b>	<b>94</b>
6.7.2.1	Ensaio piloto: Protocolo de corrida em campo .....	95
6.7.2.2	Ensaio piloto: Suplementação da bebida à base de açaí .....	96
6.7.2.3	Ensaio controlado: Teste de aptidão cardiorrespiratória .....	97
6.7.2.3.1	Protocolo de esforço cardiorrespiratório .....	98
6.7.2.4	Suplementação da bebida no ensaio controlado .....	103
<b>6.7.3</b>	<b>Análises bioquímicas e hematológicas nos ensaios clínicos ....</b>	<b>103</b>
<b>6.7.4</b>	<b>Desenho experimental .....</b>	<b>106</b>
6.7.4.1	Bebida à base de açaí (AD, AED) para consumo nos ensaios: conteúdo fitoquímico, nutricional e de atividade antioxidante.....	109
6.7.4.2	Protocolo de exercício máximo e condições controle no ensaio controlado .....	110
<b>6.7.5</b>	<b>Análises estatísticas do ensaio clínico .....</b>	<b>111</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>113</b>

7.1	AQUISIÇÃO DE POLPAS INTEGRAIS COMERCIAIS DE AÇAÍ, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL e pH .....	113
7.2	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DAS POLPAS DE AÇAÍ .....	115
7.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ LIOFILIZADO .....	116
7.4	COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO AÇAÍ LIOFILIZADO .....	119
7.5	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	120
7.6	BEBIDA À BASE DE AÇAÍ: ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	130
7.7	ANÁLISE SENSORIAL .....	138
<b>7.7.1</b>	<b>Teste de aceitação 1</b> .....	138
<b>7.7.2</b>	<b>Teste de aceitação 2</b> .....	139
7.8	VIDA DE PRATELEIRA .....	143
7.9	ENSAIO CLÍNICO .....	144
<b>7.9.1</b>	<b>Características da amostra e importância do estudo morfológico e dietético</b> .....	144
<b>7.9.2</b>	<b>Ensaio clínico piloto</b> .....	146
7.9.2.1	Amostra: características morfológicas, treinamento, perfil dietético e hematológico .....	147
7.9.2.2	Análise dos marcadores bioquímicos, de estresse muscular e oxidativo .....	149
<b>7.9.3</b>	<b>Ensaio clínico controlado</b> .....	151
7.9.3.1	Amostra: características morfológicas, fisiológicas e perfil dietético dos atletas .....	151
7.9.3.2	Teste cardiopulmonar e protocolo incremental em rampa .....	155
7.9.3.3	Análise dos marcadores bioquímicos de estresse muscular, oxidativo e imunológico .....	156
7.9.3.4	Análise da percepção do esforço (Borg CR 10) e de indicadores cardiorrespiratórios .....	159
7.10	DISCUSSÃO .....	163
<b>7.10.1</b>	<b>Polpas de açaí, açaí liofilizado e desenvolvimento da bebida energética para atletas</b> .....	163
<b>7.10.2</b>	<b>Ensaio clínico piloto</b> .....	167
<b>7.10.3</b>	<b>Ensaio controlado</b> .....	171

7.11	CONCLUSÃO .....	178
<b>8</b>	<b>APLICAÇÕES PRÁTICAS E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>180</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>181</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>182</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>202</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>213</b>



## LISTA DE TABELAS

1	Perfil nutricional do açaí liofilizado em matéria seca .....	43
2	Antocianinas de importância dietética .....	45
3	Conteúdo de antocianinas em amostras de açaí .....	46
4	Compostos bioativos em 18 frutas exóticas tropicais brasileiras (mg/100g matéria fresca <sup>a</sup> ) e umidade .....	49
5	Protocolos de exercício no aumento de marcadores de estresse muscular e oxidativo .....	68
6	Papel da suplementação no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo em diferentes intensidades de exercício .....	69
7	Composição nutricional, valor energético (Kcal), pH e umidade das polpas integrais de açaí estudadas .....	113
8	Valores dos teores de carboidratos, lipídeos e proteínas (g/%) em matéria seca nas amostras de polpas de açaí .....	115
9	Análise microbiológica das polpas comerciais de açaí (n=12).....	116
10	Conteúdo de fenólicos e antocianinas totais (ACT) e atividade antioxidante (DPPH e ORAC) nas amostras de açaí liofilizadas .....	117
11	Composição nutricional, fenólicos e antocianinas totais e atividade antioxidante do açaí liofilizado .....	120
12	Condições pré-estabelecidas dos principais componentes da bebida (variáveis independentes) como nível inferior (-)/superior (+)	121
13	Matriz de planejamento $2^{4-1}$ ORAC .....	122
14	ANOVA do modelo 1; Var.: ORAC; $R^2=1$ (bebida à base de açaí) $2^{**}(4-1)$ , desenho VD: ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (atividade antioxidante).....	122
15	Efeitos e coeficientes estimados no experimento 1; Var.: ORAC; $R^2=1$ , (bebida à base de açaí) $2^{**}(4-1)$ desenho; VD: ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (atividade antioxidante) .....	123

(continua)

16	Coeficientes de regressão no experimento 1; Var.: ORAC; $R^2=1$ , (bebida à base de açaí) $2^{**}(4-1)$ desenho; VD: ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .....	123
17	ANOVA modelo 2; Var.: ORAC; $R^2=0,99991$ ; R Adj: ,99969 (bebida à base de açaí) $2^{**}(4-1)$ desenho; MQ residual= ,09945; VD: ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (atividade antioxidante) .....	124
18	Coeficientes de regressão (Coef regres); Var: ORAC $\mu\text{g.mL}$ (atividade antioxidante); $R^2=0,99991$ ; Adj: ,99969, $2^{**}(4-1)$ desenho; MQ residual=,09945; VD: ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (atividade antioxidante).....	125
19	Efeitos estimados e interações no experimento 2; Var. ORAC: atividade antioxidante; $R^2=0,99992$ ; R ajust=0,99971 (bebida açaí); $2^{**}(4-1)$ desenho; MQ residual=0,0950625; VD:ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (atividade antioxidante).....	125
20	Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas pelo método ORAC e DPPH.....	131
21	Conteúdo nutricional, fenólicos e antocianinas totais, atividade antioxidante, estabilidade oxidativa e qualidade microbiológica da bebida selecionada.....	132
22	Análise de variância e regressão linear do experimento para a variável *ORAC-FL nas bebidas (n=8).....	134
23	Análise de variância e regressão linear do experimento para a variável **ORAC-FL nas bebidas (n=8).....	134
24	Valores relativos de ORAC-FL na s bebidas (n=*) segundo padrão trolox e ácido gálico.....	137
25	Resultados para o Teste de aceitação preliminar (Teste 1 n=101) ...	139
26	Aceitação da bebida energética a base de açaí para os escores impressão global, doçura e acidez .....	142
27	Vida de prateleira .....	144
28	Faixa etária, características morfológicas dos atletas .....	146
29	Treinamento dos atletas e capacidade aeróbia média do grupo (n=14).....	147

30	Perfil hematológico e imunológico dos atletas .....	147
31	Análise da ingestão habitual de nutrientes dos atletas e inadequação (%) .....	148
32	Análises dos marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo com CD e AD em repouso e após a corrida em campo a 70% do $VO_{2max}$ , até a exaustão .....	149
33	Amostra: Características morfológicas, aptidão cardiorrespiratória e faixa etária dos atletas (n=14) .....	151
34a	Avaliação dietética inicial dos atletas (n=14) .....	152
34b	Média $\pm$ SD da ingestão diária (n=14) modificada (calorias totais, macronutrientes e vitaminas antioxidantes) antes de cada teste ....	154
35	Média $\pm$ SD do conteúdo em macronutrientes, polifenóis e antocianinas totais e atividade antioxidante da bebida energética a base de açaí liofilizado .....	154
36	Média $\pm$ DP, para as variáveis de entrada do protocolo cardiopulmonar máximo incremental em rampa (CPET), velocidade, inclinação na esteira e tempo de exaustão durante o exercício com cargas contínuas para as condições WAED e AED .....	155
37	Análise dos marcadores de injúria muscular, estresse oxidativo e do sistema imunológico .....	157

## LISTA DE FIGURAS

1a	Açaizeiro.....	33
1b	Cachos do fruto .....	34
2	Frutos maduros .....	34
3	Corte transversal do fruto .....	35
4	Transporte do açaí em comunidades ribeirinhas .....	35
5	Açaizeiros: estuário do rio Amazonas .....	36
6	Polpa de açaí .....	36
7	Estruturas moleculares de metabólitos secundários da classe dos Flavonoides e seus subgrupos.....	39
8a	Estrutura química da antocianina.....	44
8b	Estruturas químicas de quatro flavonas do açaí .....	46
9	Cianidinas majoritárias do açaí .....	47
10	Metabólitos secundários majoritários do açaí .....	48
11	Rota dos polifenóis dietéticos e seus metabólitos em humanos.....	52
12	Eficiência de metabólitos gerados por polifenóis da dieta na promoção da saúde .....	53
13a	Localização celular dos antioxidantes de defesa endógenos .....	59
13b	Esquema geral de formação de radicais livres no organismo. Produto final comum H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no centro do esquema. Sistemas de degradação específicos mantêm níveis controlados de ROS .....	60
14	Esquema de mecanismo de lipoperoxidação em ácidos graxos.....	61
15	Efeitos bifásicos dos ROS na produção de força muscular .....	66
16	Esquema das interações entre exercício, RONS, antioxidantes, citocinas e lipopolissacarídeos .....	72
17	Fluxograma de elaboração da bebida à base de açaí .....	89
18a	Formulário para teste de aceitação através de escala hedônica de nove pontos para os atributos sabor e cor .....	91
18b	Formulário para teste de aceitação através de escala hedônica de nove pontos para julgamento quanto à cor, sabor, impressão global e intenção de compra da bebida .....	91

(continuação)

19	Avaliação antropométrica e dietética para os ensaios clínicos .....	95
20	Ensaio piloto: corrida em campo .....	96
21	Teste cardiorrespiratório em rampa .....	98
22	Protocolo de esforço cardiorrespiratório .....	99
23	Percepção subjetiva de esforço - escala de Borg CR10.....	101
24a	Teste incremental em rampa no LABSAU/IEFD, UERJ .....	102
24b	Esteira rolante elétrica e teste incremental em rampa no CEFAN / Marinha, RJ .....	102
25	Ilustrações dos laboratórios improvisados de coleta de sangue (CEFAN/RJ e LABSAU/UERJ) e os procedimentos de coleta nos ensaios clínicos .....	106
26	Desenho experimental ensaio piloto .....	107
27	Desenho experimental ensaio controlado .....	109
28	Diagrama de Pareto .....	126
29	Superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes glutamina (Gln) e açai .....	127
30	Superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes carboidratos (CHOs) e açai .....	128
31	Superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes suco de lima ácida e açai .....	129
32	Diagrama de valores observados <i>versus</i> valores previstos no modelo 2 .....	130
33a	Valores previstos <i>versus</i> observados para o modelo método ORAC (padrão ácido gálico) nas bebidas (n=8) .....	135
33b	Valores previstos <i>versus</i> observados para o modelo, método ORAC (padrão Trolox), nas bebidas (n=8) .....	135
34	Bebidas consumidas no teste de aceitação 2 e codificadas com a numeração 331, 111, 341 e 221 .....	140
35	Velocistas do Núcleo Olímpico Projeto Lançar-se para o Futuro/RJ	140

(continua)

(continuação)

36a	Procedimentos da análise sensorial e realização do teste de aceitação entre os velocistas (n=35) .....	141
36b	Procedimentos do teste de aceitação entre os voluntários .....	141
37A	Amônia em repouso e após corrida em campo (n=14) com AD. *Diferença significativa .....	150
37B	Glutaciona peroxidase (GPx) em repouso e após corrida em campo (n=14) com CD e AD. *Diferença significativa .....	150
37C	Malondialdeído (MDA) antes e após corrida em campo (n=14) com AD.....	150
38	Diagrama de Bland-Altman mostrando as diferenças individuais entre as condições WAED e AED para o tempo de exaustão (Tlim). A primeira e a terceira linhas horizontais tracejadas em cada posição no gráfico, representam os limites de 95% em acordo com o tratamento. S <sub>d</sub> = desvio padrão das diferenças. ....	156
39a	Média ± DP para FC a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão. WAED: sem uso da bebida energética base de açaí; AED: bebida energética à base de açaí; NS= não significativo; FC = frequência cardíaca .....	159
39b	Média ± DP para C-RPE e RPE-L a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão. C-RPE= percepção de esforço central; L-RPE percepção de esforço local.....	160
39c	Média ± DP para VO <sub>2</sub> , VCO <sub>2</sub> e V <sub>E</sub> a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão. VO <sub>2</sub> = captação de oxigênio; VCO <sub>2</sub> = emissão CO <sub>2</sub> ; V <sub>E</sub> = ventilação pulmonar.....	161
40	Percepção de esforço local e geral (RPE) nas condições AED e WAED .....	162

## LISTA DE QUADROS

1	Grupos de flavonoides, fontes dietéticas e seus constituintes químicos predominantes .....	41
2	Composição nutricional da polpa de açaí .....	42
3	Composição nutricional do açaí liofilizado .....	43
4a	Antioxidantes dos sistemas de defesa endógeno e exógeno .....	62
4b	Proteínas plasmáticas ligadas a metais de transição .....	63
5	Escala de Borg CR 10 .....	100
6	Resumo dos marcadores analisados, métodos e valores de referência .....	105
7	Características físicas e químicas das polpas de açaí em 100g (matéria seca).....	114

## LISTA DE GRÁFICOS

1	Correlação entre os resultados das análises de conteúdo de fenólicos e antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3) .....	118
2	Correlação entre os resultados das análises de atividade antioxidante pelo método ORAC e teores de antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3) .....	118
3	Correlação entre os resultados das análises de atividade antioxidante pelo método ORAC e conteúdo de fenólicos totais no açaí liofilizado (n=3) .....	118
4	Correlação das médias da atividade antioxidante pelo método do DPPH e teores de antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3) .....	119
5	Correlação das médias da atividade antioxidante pelo método ORAC e Fenólicos totais das bebidas formuladas (n=8) .....	133
6	Correlação das médias da atividade antioxidante pelo método DPPH e Fenólicos totais nas bebidas formuladas (n=8) .....	133
7	Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo para o padrão Trolox e área sob a curva (AUC) na presença das amostras de bebidas (n=10), padrão e controles positivo e negativo .....	136
8	Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo para o padrão ácido gálico e área sob a curva (AUC) na presença das amostras de bebidas, padrão e controle positivo.....	136
9	Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo para o padrão Trolox e área sob a curva (AUC) na presença de BCC, BSC e controle positivo.....	138
10	Intenção de compra para as bebidas testadas.....	143



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPH	2,2'-azobis 2-amidinopropano dihidroclorídrico
ADP	Adenosina difosfato
AD; AED	Bebida energética à base de açaí
ALT	Alanina aminotransferase
AMP	Adenosina monofosfato
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APHA	American Public Health Association
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BHT	Butil hidroxitolueno
CAT	Catalase
CK	Creatinoquinase total
CPET	Teste cardiopulmonar em rampa
CR10	Escala 10 de Borg – fadiga intensa
C-RPE	Percepção de esforço geral/central
DMN	4'demetilnobiletina
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil
EAG	Equivalente em Ácido Gálico
FAO	Food Agriculture Organization
FRAP	Capacidade de redução de íons férricos
Gln	Glutamina
GPx	Glutamina peroxidase
HR/FC <sub>máx</sub>	Frequência cardíaca máxima
IL1; IL6	Interleucina 1 e 6
IMC	Índice de massa corporal
IMP	Inosina monofosfato
INCL	Inclinação
LDH	Lactato desidrogenase
LOOH; LOO <sup>·</sup>	Lipoperóxidos

L-RPE	Percepção de esforço local
MDA	Malondialdeído
NADH	Niacina adenina nucleotídio reduzida
NADPH	Niacina adenina fosfato reduzida
$\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$	Amônia/ Íon amônio
NMDA	Receptores N-metil D-aspartato
NMP	Número mais provável
NO	Óxido nítrico
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Radical superóxido
$\text{OH}^{\cdot}$	Radical hidroxila
ORAC	Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio
PAD	Pressão arterial diastólica
$\text{PETO}_2/\text{PETCO}_2$	Frações expiradas de $\text{O}_2$ e $\text{CO}_2$
PIQ	Padrão de identidade e qualidade
$\text{PLA}_2$	Fosfolipase $A_2$
PMN	Células polimorfonucleares
R	Razão de troca respiratória
RC	Radicais de carbono
RCI	Radicais de cloro
RES	Radicais de enxofre
$\text{RER}_{\text{máx}}$	Razão de troca respiratória máxima
ROS/RONS	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
RNS	Radicais de nitrogênio
SOD	Superóxido dismutase
TBARs	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
THC	Tetrahidrocurcumina
$\text{TNF}_\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UV	Ultravioleta
$\text{VCO}_2$	Produção de dióxido de carbono
$\text{Ve}/\text{LV1}$	Limiar ventilatório
$\text{VEO}_2/\text{VEO}_2$	Equivalentes ventilatórios

$VO_{2\text{ pico}}$	Captação de oxigênio de pico
$VO_{2\text{ máx}}$	Captação/consumo máximo de oxigênio
VO2000	Analizador metabólico de gases
WAED	condição controle: dieta usual + bebida controle
$\lambda$	comprimento de onda

## 1 INTRODUÇÃO

Alimentos ou ingredientes que contenham, além de seus nutrientes básicos, substâncias biologicamente ativas ou nutracêuticos, são considerados funcionais e, deste modo podem auxiliar na promoção da saúde. Os compostos ativos presentes nestes alimentos podem estar associados ao aumento dos efeitos benéficos no organismo pelo possível controle do estresse oxidativo induzido por atividades extenuantes e doenças (ERBA *et al.*, 2005; MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; MUÑOZ *et al.*, 2010).

A fronteira entre alimentos funcionais e nutracêuticos nem sempre é clara, já que suas definições possuem diferenças principalmente quanto à apresentação. *Nutracêuticos* são suplementos alimentares que se apresentam na forma concentrada de um agente bioativo, a partir de um alimento presumido, em matriz não alimentar, cujo uso tem a finalidade de melhorar a saúde em doses que excedem as que podem ser obtidas de alimentos convencionais (BERNAL *et al.*, 2011). *Alimentos funcionais* são aqueles cujo consumo regular podem produzir efeitos benéficos para a saúde, além de suas propriedades nutricionais (SCHIEBER, 2012; HENRY, 2010).

Nutracêuticos são consumidos na forma de cápsulas, pílulas ou comprimidos, enquanto os alimentos funcionais são sempre consumidos na sua forma original. Assim, quando um agente bioativo está incluído numa formulação de alimentos, é considerado um alimento funcional; e se o mesmo bioativo estiver incluído em cápsulas, vai se constituir em nutracêutico (ESPÍN; GARCÍA-CONESA; TOMÁS-BARBERÁN, 2007).

Metabólitos secundários de plantas exercem inúmeras funções biológicas e têm baixo potencial como compostos ativos quando comparados aos fármacos; porém, se ingeridos regularmente e em quantidades significativas, como parte da dieta usual, podem promover efeitos fisiológicos benéficos (BERNAL *et al.*, 2011).

A *European Commission's Concerted Action on Functional Food Science*, coordenada pelo *International Life Science Institute (ILSI)*, considera ser um alimento ou produto funcional se, em conjunto com seus nutrientes básicos, possa promover efeitos benéficos em uma ou mais funções do organismo, melhorando as condições físicas gerais e/ou reduzindo o risco de doenças crônicas (EUSSEN *et al.*, 2011; SZAKÁLY *et al.*, 2012).

O uso de medicamentos e/ou associação de terapia não medicamentosa profilática obtida por consumo de suplementos dietéticos, extratos vegetais antioxidantes, produtos naturais de plantas comestíveis/medicinais e frutas podem potencialmente prevenir ou reverter a promoção ou progressão de doenças crônicas não transmissíveis, pela atenuação da inflamação e ou modulação de mecanismos de sinalização celular e redox no organismo (ARUOMA, 2006; RATHEE *et al.*, 2009).

Atualmente, o mercado de alimentos funcionais cresce muito rapidamente, com taxas anuais que oscilam entre 8 e 16% e movimentação financeira estimada em 73 bilhões de euros (DATAMONITOR, 2004). Ademais, tem seu consumo mais expressivo em países da Europa, Japão e Estados Unidos (DE JONG *et al.*, 2003). Entre estes alimentos ou produtos, as bebidas funcionais são um sucesso global devido ao fato de serem uma tendência de consumo que cresce 5% ao ano, não só por sua praticidade, mas também pela apresentação fácil e conveniente em muitas situações (SIRÓ *et al.*, 2008; SZAKÁLY *et al.*, 2012). Contudo, as formas de apresentação dos alimentos funcionais são variadas (sopas, pós, iogurtes, entre outros), combinando substâncias comestíveis e nutritivas de boa qualidade, além de compostos biologicamente ativos, cujo consumo tem sido estimulado atualmente como estratégia de redução de danos metabólicos e no controle de doenças (HENRY, 2010; EUSSEN *et al.*, 2011). Portanto, esses alimentos devem fazer parte da dieta usual, apresentando características sensoriais adequadas para o consumo, bom conteúdo nutritivo e efetiva funcionalidade, para que exerçam o papel profilático ou fisiológico específico na promoção da saúde e no aumento do desempenho físico e mental; porém, devem ser seguros para o consumo humano sem supervisão médica (BRASIL, 1999b; ROBERFROID, 2002; MORAES; COLLA 2006).

A legislação brasileira é bem definida quanto às alegações funcionais e de saúde nos rótulos de produtos alimentícios e suplementos, bem como na demonstração de segurança e eficácia desses alimentos e nutrientes (LAJOLO, 2002). A regulamentação dos alimentos funcionais no país é assegurada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS), cuja essência da normatização se encontra nas Resoluções: 16/99, que trata dos procedimentos para registro de alimentos e/ou novos ingredientes sem necessitar de um padrão de identidade e qualidade (PIQ); 17/99, que estabelece as diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança desses alimentos para a saúde humana; 18/99, que

orienta sobre as diretrizes básicas para análise e comprovação das propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas na rotulagem; e na Resolução 19/99, que determina os procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais (BRASIL,1999a;1999b;1999c;1999d; MORAES; COLLA, 2006).

O mercado global de alimentos funcionais continua a ser um crescente segmento para a indústria de alimentos e bebidas que procura atender a um consumidor ávido por novidades quanto ao papel da nutrição para saúde, estética e bem-estar, principalmente devido aos elevados custos com a saúde terem forçado a procura de meios mais baratos e eficientes para proteção do organismo, sem supervisão médica (ÖZER; HUSEYIN, 2010; BALDISSERA *et al.*, 2011).

As bebidas energéticas e os produtos lácteos enriquecidos com compostos bioativos se destacam em popularidade, pelas alegações que lhes são atribuídas, como as de auxiliarem na manutenção da saúde, no antienvhecimento, no aumento da energia, no desempenho físico e mental, na saúde do trato gastrointestinal e cardiovascular (MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; PÉSCUMA *et al.*, 2010; FLUEGEL *et al.*, 2010; BALDISSERA *et al.*, 2011). Se a esses produtos forem adicionados extratos de frutas ou vegetais ricos em compostos antioxidantes, podem auxiliar na modulação do estresse muscular e oxidativo, o que contribuiria para a prevenção de doenças e controle da injúria muscular (DUTHIE *et al.*, 2006; PANZA *et al.*, 2008; CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2010; MUÑOZ *et al.*, 2010).

Bebidas elaboradas com frutos tropicais e enriquecidas com nutrientes antioxidantes estão alcançando grande popularidade pelo desejo dos consumidores em experimentar alimentos mais saudáveis, com sabor e aroma exóticos, ao mesmo tempo em que as indústrias têm focado na produção de bebidas sob a alegação de saúde como diferencial de mercado (PESCUMA *et al.*, 2010; FLUEGEL *et al.*, 2010; MUÑOZ *et al.*, 2010; GIRONÉS-VILAPLANA *et al.*, 2013).

Entre estes variados sabores, o açaí vem se destacando na produção de bebidas, geleias e sorvetes para satisfazer as necessidades deste potencial mercado, não só por seu apelo comercial, como também por sua atividade antioxidante, associada ao seu rico conteúdo em substâncias fenólicas que exercem propriedades anti-inflamatória e cardioprotetora no meio biológico (HOGAN *et al.*, 2010).

O açaí é considerado um alimento funcional e uma super fruta por seu rico conteúdo nutritivo, destacando-se também como bebida energética entre praticantes de atividades físicas (LEE; BALLICK, 2008; FELZENSZWALB *et al.*, 2013). A bebida energética à base de açaí desenvolvida pelo estudo enquadra-se na Resolução 18/2010 (BRASIL, 2010), já que apresenta 75% de seu valor energético total proveniente dos carboidratos e para ser considerada funcional para atletas, deve comprovar, a partir de estudo clínico, o controle de pelo menos dois parâmetros fisiológicos ou bioquímicos que possam estar associados a benefícios para a saúde do grupo estudado, sem oferecer risco aos prováveis consumidores (EUSSEN *et al.*, 2011). Desta forma, o suplemento estará seguro para o consumo e poderá ser registrado segundo normas da ANVISA/MS, após reconhecidas as suas propriedades terapêuticas ou funcionais.

Estudos demonstram que o consumo de frutas tropicais e seus extratos podem contrabalançar os efeitos negativos de dietas pró-oxidantes e assim, beneficiar a saúde e a função imunológica (NANTZ *et al.*, 2006; MARGARITIS; ROSSEAU, 2008). Entre as frutas tropicais, o açaí (*Euterpe oleracea* Mart) tem atraído muita atenção por sua atividade antioxidante profilática (SCHAUSS *et al.*, 2006a, 2006b; RUFINO *et al.*, 2010), portanto, o interesse da indústria de bebidas e alimentos em utilizar o açaí como ingrediente funcional tem crescido progressivamente (POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009). Assim, bebidas esportivas com adição de açaí apresentam apelo comercial e podem exercer efeito antioxidante e anti-inflamatório (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010; HOGAN *et al.*, 2010; HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011). A combinação do açaí com nutrientes energéticos em bebidas esportivas pode auxiliar atletas durante exercícios vigorosos, no entanto, o consumo de bebidas à base de açaí para atletas tem sido pouco investigado, apesar do grande interesse nas propriedades do fruto como alimento funcional (MERTENS-TALCOTT *et al.*, 2008; JENSEN *et al.*, 2008; 2009; PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010). Os efeitos de bebidas e alimentos ricos em nutrientes e fitoquímicos antioxidantes na redução de marcadores de estresse oxidativo já foram anteriormente reportados (ZOPPI *et al.*, 2006; JENSEN *et al.*, 2009; MUÑOZ *et al.*, 2010). MORILLAS-RUIZ *et al.* (2006) verificaram que atividade realizada a 70% do  $VO_{2máx}$  durante 90 minutos induziu aumento do estresse oxidativo e que o consumo de uma bebida antioxidante foi

eficiente na redução do dano muscular ocasionado pelo exercício. MUÑOZ *et al.* (2010) demonstraram que a ingestão diária de uma bebida antioxidante controlou o estresse oxidativo induzido por exercício em idosos saudáveis. Pesquisas realizadas com consumo de uma mistura de suco de frutas vermelhas, incluindo extrato de açaí, mostrou ser eficaz contra o dano muscular e oxidativo em voluntários saudáveis (JENSEN *et al.*, 2008; 2009). Ademais, estudos com suplementos de carboidratos e aminoácidos mostraram proteger atletas da hiperamonemia exercício-induzida, modulando o aumento de marcadores de lesão muscular (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008; PRADO *et al.*, 2011; GONÇALVES *et al.*, 2012). Contudo, o papel do consumo de bebidas para atletas a base de açaí, na redução da percepção de esforço, em marcadores de injúria muscular, estresse oxidativo e na atenuação da resposta cardiorrespiratória em atividades de curta duração e alta intensidade ainda não foi reportado. Até Janeiro de 2013 foram procurados em Bases de dados (Pubmed e Science direct) trabalhos similares, através dos descritores açaí, antioxidantes, bebidas e atletas e foram encontrados somente quatro estudos entre 2008 e 2012 com indivíduos saudáveis em um “n” de 141 artigos. Baseada na alta capacidade antioxidante do açaí foi desenvolvida a bebida energética para atletas à base do fruto liofilizado para verificar a eficácia de seu consumo na melhora da resposta cardiorrespiratória, de percepção de esforço e na modulação de marcadores de estresse muscular e oxidativo em atividades de curta duração e alta intensidade. A hipótese do estudo foi de que a bebida poderia melhorar a tolerância ao esforço pelo aumento do tempo de exaustão durante exercícios de alta intensidade e, por conseguinte, ser considerada um suplemento funcional para atletas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 AÇAÍ (*Euterpe oleraceae* Martius): ORIGEM E DESCRIÇÃO BOTÂNICA

O gênero *EUTERPE* (*Arecaceae/Palmae*) inclui oito espécies de palmeiras nativas das Américas do Sul e Central e largamente distribuídas no nordeste da América do Sul (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011). No Brasil, a palmeira tem suas maiores reservas naturais encontradas nas regiões Norte e Nordeste, especialmente no Amazonas, Pará, Acre, Rondônia, Amapá e Maranhão,



apresentando grande abundância no estuário do rio Amazonas, em igapós, terra firme e terreno de várzeas (ROGEZ, 2000).

O açazeiro é a palmeira mais produtiva do estuário, não somente pelos seus frutos, como também pela produção de outros gêneros derivados da planta, como o palmito (MENEZES; TORRES; SRUR, 2008). O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador do açaí (MENEZES, 2005), porém o Pará tem o fruto mais valorizado, sendo responsável pela maior parte de sua produção (95%), calculada em 100 a 180 mil litros/ dia em Belém (HOMMA; FRAZÃO, 2002).

O açazeiro é uma palmeira monoica de multi-hastes e tronco alto, que pode alcançar 25 metros de altura (Figuras 1 e 5). Os frutos da *E. oleracea* inicialmente aparecem como cachos verdes quando imaturos; posteriormente amadurecem ficando com cor roxa-violeta (Figuras 2 e 4) (ROGEZ, 2000).

O epicarpo do fruto é uma camada fina, o mesocarpo tem uma espessura de apenas um a dois milímetros, e o núcleo representa cerca de 85-95% de seu volume (Figura 3). O suco de açaí, ou simplesmente açaí, é preparado por maceração dos frutos em água morna, triturando-os para esmagar a polpa amolecida (Figura 6) com posterior adição de água e filtração do suco (LEE; BALICK, 2008; POMPEU; SILVA; ROGEZ, 2009).

Nas Figuras 1a e 1b estão demonstradas as características botânicas do açazeiro e seus cachos, e na Figura 2, a ilustração dos frutos maduros.



**Figura 1a** Açazeiro

Fonte: <https://www.google.com/search?hl=ptbr&site=img&tbm=isch&source=açaí>. Acesso em 01/10/2013.



**Figura 1b** Cachos do fruto

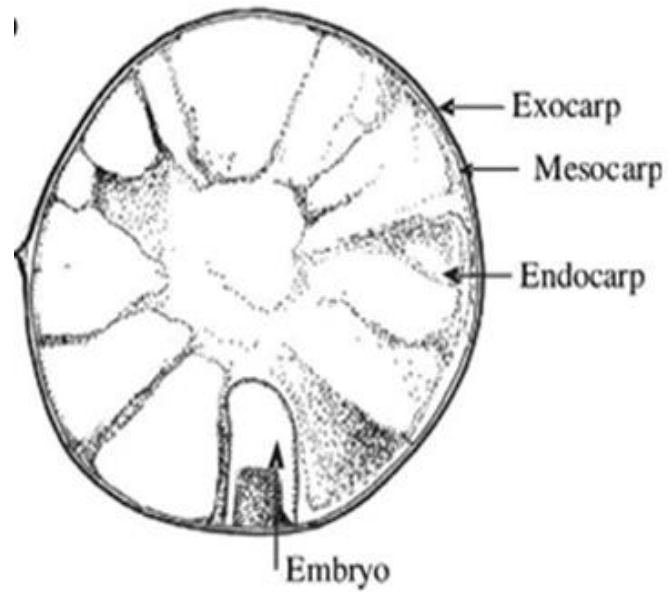
Fonte: <http://www.arara.fr/AcaiCacho.jpg>. Acesso em 27/11/2013.



**Figura 2** Frutos maduros

[https://encrypted-tbn1.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcShIpxF3hgoNvdlucBpjka7M-ygUMv3sJyJM\\_b82MsSR0DXBjpl](https://encrypted-tbn1.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcShIpxF3hgoNvdlucBpjka7M-ygUMv3sJyJM_b82MsSR0DXBjpl). Acesso em 27/11/2013.

Nas Figuras 3 e 4, respectivamente, estão representados o corte transversal do açaí e uma das formas de transporte de frutos verdes e maduros, que ocorre muitas vezes de maneira rústica e artesanal, o que pode ser um risco para o aparecimento de parasitas ao longo da viagem (ROGEZ, 2000).



**Figura 3** Corte transversal do fruto  
 Fonte: POMPEU, SILVA e ROGEZ, 2009.



**Figura 4** Transporte do açaí em comunidades ribeirinhas  
<https://www.google.com/search?hl=pt-br&site=img&tbm=isch&source=açaí>.  
 Acesso em 01/10/2013.

A Figura 5 ilustra açazeiros no estuário do Rio Amazonas, e a Figura 6, as características do açaí após o processamento de maceração ao se tornar uma polpa cremosa de cor roxo violácea.



**Figura 5** Açazeiros: estuário do Rio Amazonas

Fonte: <https://www.google.com.br/www.redejucara.org.br/apres/karina.pdf>. <Acesso em 01/10/2013>.

A polpa de açaí (Figura 6) possui uma classificação que é dependente da quantidade de água utilizada no processo de extração e que corresponde à sua qualidade, baseada nos critérios do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA, BRASIL, 2000). Os tipos de polpas encontradas no mercado são a grossa ou premium, com mais de 14% de sólidos totais; média ou regular, entre 11 e 14% de sólidos totais e fina e popular, entre 8 a 11%.



**Figura 6** Polpa de açaí

Fonte: <https://www.google.com.br/www.redejucara.org.br/apres/karina.pdf>. Acesso em 01/10/2013.

## 2.2 AÇAÍ: MERCADO E CONSUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas com uma produção de 35 milhões de toneladas, perdendo destaque somente para China e Índia. O aumento no consumo interno e na exportação vêm impulsionando o mercado agrícola brasileiro, no que se refere a gerar tecnologias que respondam às

necessidades do mercado consumidor através, por exemplo, do melhoramento de frutas exóticas como o açaí (EMBRAPA, 2006).

O Açaí, fruto da palmeira “açazeiro”, originária da região do delta amazônico, tem seu crescimento abundante principalmente no ecossistema de várzea (Figura 4), constituindo fonte alimentar para os povos indígenas, população ribeirinha e centros urbanos de Belém, maior produtor mundial do fruto (ROGEZ, 2000). O açaí é facilmente manejado no estuário do rio Amazonas porque é bem adaptado às condições de inundações diárias (Figura 5) quando comparado a outras culturas, tais como a do arroz, da cana de açúcar e da mandioca (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Em muitas partes do Brasil o suco de açaí é consumido como sopa gelada (Figura 6), adicionada de farinha de mandioca ou tapioca e servido com camarão ou peixe, porém tem grande popularidade como suco entre frequentadores de praias e academias de ginástica, normalmente adicionado de frutas, cereais e xaropes, mas há também grande consumo do açaí na apresentação de picolés e sorvetes cremosos (LEE; BALICK, 2008).

O consumo popular também atribuiu ao fruto efeitos medicinais como o de prevenir gripe, febre, dores corporais, além de seu óleo ajudar a curar diarreias, eczemas, parasitoses e verminoses (MATHEUS *et al.*, 2006).

O açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) tem nos estados do Amapá, Amazonas e Pará, sua grande produção interna e seu consumo no mercado nacional é atribuído também à sua popularidade para o ganho de vigor físico e energia. Nos últimos 10 anos, um *boom* econômico foi verificado na comercialização do açaí, não só no mercado brasileiro, mas também em países como Estados Unidos, Japão e Europa (MENEZES; TORRES; SRUR, 2008).

O fruto alcançou grande interesse internacional por seu sabor e aroma exóticos, como também pelo conteúdo elevado em metabólitos secundários, entre eles os flavonoides, que exibem ação antioxidante e antiinflamatória nos sistemas biológicos, o que pode estar associado a benefícios adicionais para a saúde, já demonstrado em diversos estudos que caracterizaram o açaí como alimento funcional (BUB *et al.*, 2003; KARAKAIA, 2004; POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; PACHECO-PALENCIA; HAWKIN; TALCOTT, 2007).

Os valores da exportação do açaí mostraram que a partir de 2004 alcançou a posição de principal fruto do Pará, e atualmente cerca de 40 agroindústrias operam no estado com o processamento do fruto. O crescimento das exportações para as Regiões Sul, Sudeste, Nordeste, como também para os Estados Unidos, União Europeia e Japão impulsionaram a melhoria no funcionamento da cadeia produtiva do açaí com a comercialização de produtos *in natura* e beneficiados, como polpas, doces, geleias, sorvetes e bombons (DA SILVA *et al.*, 2008).

O crescente mercado do consumo de açaí levou à expansão das áreas de manejo, com a transformação da produção tradicional (Figura 4) para novos sistemas de plantio e colheita, para modernas indústrias que atualmente dominam a produção em várzeas e terra firme, que também excluíram os consumidores de menor poder aquisitivo devido ao aumento no consumo de polpa de açaí nos mercados nacional e internacional (HOMMA *et al.*, 2006).

A produção de açaí em escala industrial possibilitou melhor controle sanitário e de qualidade do produto, pois é utilizada água de boa qualidade e processo de pasteurização da polpa, o que reduz os riscos de contaminação parasitológica e microbiológica (LEE; BALICK, 2008). O açaí é de difícil manejo, pois com machucaduras e colheita fora da safra podem ocorrer avarias nos frutos, o que estimula a fermentação precoce, diminuindo sua qualidade. A safra do açaí, dependendo do estado produtor, varia de julho a dezembro ou de novembro a abril (HOMMA *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2008) e apesar de sua grande perecibilidade, possui ótimo valor nutritivo demonstrado por seu conteúdo nutricional em lipídios, fibras, magnésio, tiamina, niacina,  $\alpha$ -tocoferol e antocianinas (NEIDA; ELBA, 2007).

### 2.3 AÇAÍ: COMPOSTOS BIOATIVOS

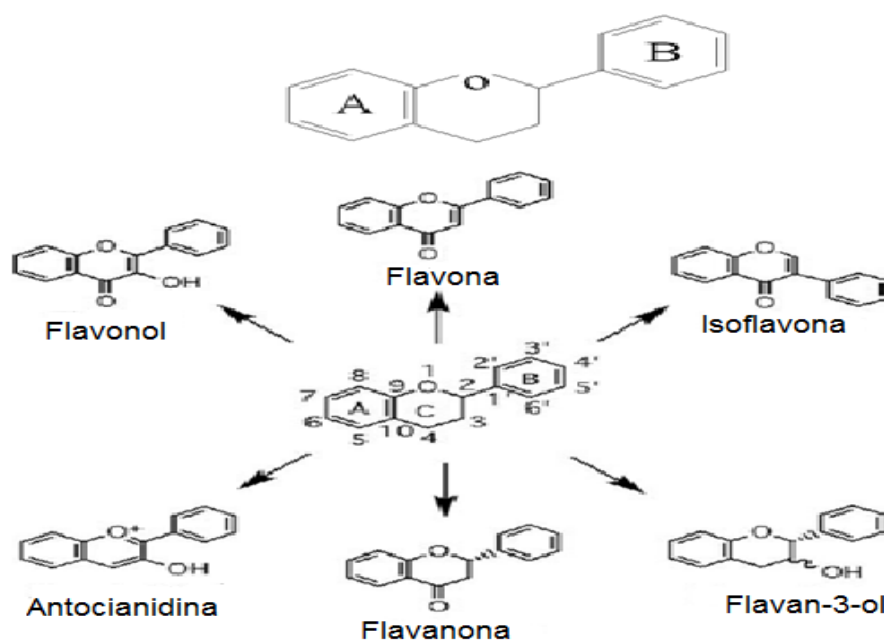
Nos últimos anos, muita atenção tem sido dada ao açaí por sua elevada capacidade antioxidante, quando comparado a outros frutos, bem como seu papel como ingrediente ou alimento funcional para a indústria de bebidas e alimentos (POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004).

O açaí liofilizado se destaca porque apresenta elevada atividade antioxidante demonstrada por estudos *in vitro*, com modelos de cultura de células e *in vivo* a partir de trabalhos com animais e humanos (JENSEN *et al.*, 2008; SPADA *et al.*, 2009; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009). Após estudos que

revelaram a atividade antioxidante elevada do fruto, vários trabalhos vêm sendo conduzidos para analisar o potencial antioxidante da polpa, extratos e sucos de açaí, em virtude de seu rico teor em polifenóis, entre eles as antocianinas, proantocianidinas, lignanas e outros flavonoides (GALLORI *et al.*, 2004; SCHAUSS *et al.*, 2006a).

Os flavonoides, pigmentos encontrados em grandes concentrações no açaí, exibem importantes atividades biológicas e farmacológicas demonstradas *in vitro* e *in vivo*, pela habilidade destes compostos em sequestrarem radicais livres, reduzirem sua formação e inibirem atividade de enzimas pró-inflamatórias, atuando como fortes agentes anti-inflamatórios (BUB *et al.*, 2003; KARAKAIA, 2004; RATHEE *et al.*, 2009). Os flavonoides têm a estrutura química (Figura 7) constituída de dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado (VOLP *et al.*, 2008; COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). Essas substâncias podem ser divididas em classes, com base na sua estrutura molecular.

A estrutura básica dos flavonoides consiste de 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos, A e B interligados via carbono heterocíclico do pirano (JAGANATH; CROZIER, 2010). Na Figura 7 está representada a estrutura molecular básica de um flavonoide e seus principais grupos.



**Figura 7** Estruturas moleculares de metabólitos secundários da classe dos flavonoides e seus subgrupos.

Fonte: VOLP *et al.*, 2008; JAGANATH; CROZIER, 2010.

Os polifenóis, entre eles as antocianinas, são efetivos doadores de hidrogênio e essa capacidade antioxidante é dependente do número e da posição dos grupamentos hidroxilas e sua conjugação (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011). O mecanismo da forte atividade antioxidante dos flavonoides envolve sequestro e neutralização de espécies reativas de oxigênio, como também redução da atividade de enzimas oxidativas geradoras dessas espécies de radicais livres (KANG *et al.*, 2010). Além dessa característica, tem sido postulado que os flavonoides exibem outras atividades biológicas exercendo ação antiviral, antimicrobiana, antiulcerogênica, antimutagênica, anti-hepatotóxica, anti-hipertensiva, hipolipidêmica (RATHEE *et al.*, 2009; KANG *et al.*, 2011; XIE *et al.*, 2012). Seus efeitos bioquímicos podem estar relacionados à inibição de enzimas pró-oxidantes e pró-inflamatórias tais como lipoxigenases, ciclooxigenases,  $\text{Ca}^{+2}$ ATPase, xantina oxidase e aldose redutase, além de exibirem atividade antiinflamatória nas fases proliferativa e exsudativa da inflamação (RATHEE *et al.*, 2009). Esses compostos fenólicos podem exercer papel regulatório sob diferentes hormônios como estrógenos, andrógenos e hormônio tireoidiano, através da modulação de passos de sinalização neural, em mecanismos de feedback periféricos e modulação da atividade enzimática (RATHEE *et al.*, 2009; PANICKAR, 2013).

XIE *et al.* (2012) demonstraram que os flavonoides do açaí apresentaram capacidade de modular a inflamação pela redução na produção de citocinas pró-inflamatórias, ativada pelo fator de necrose tumoral alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e fator de transcrição nuclear k-B (NFk-B), principalmente por ação da flavona velutina, isolada da polpa de açaí.

Os flavonoides estão presentes em alimentos vegetais como frutas e hortaliças e, portanto, sua inclusão na dieta usual é hoje uma estratégia de promoção de saúde, já que o consumo de frutas ricas em compostos fenólicos está associado ao aumento de antioxidantes no organismo (VOLP *et al.*, 2008; KANG *et al.*, 2011). Estudo recente mostrou que o consumo de frutas e vegetais é globalmente insuficiente e, portanto, deve ser incentivado, pois aumenta a concentração de vitaminas e metabólitos secundários no plasma, contribuindo assim, para a prevenção de doenças (POIROUX-GONORD *et al.*, 2010)



O consumo diário de cinco porções ou mais de frutas e vegetais é hoje uma recomendação do Ministério da Saúde para se diminuir pela metade o risco do aparecimento de doenças crônicas e do trato gastrintestinal (DEMBITSKY *et al.*, 2011). Frutas, vinho tinto e vegetais contêm quantidades significativas de flavonoides que podem atuar modulando a biossíntese de prostanoídes e na expressão de citocinas pró-inflamatórias (RUFINO *et al.*, 2010; RATHEE *et al.*, 2009; DÁVALOS; GOMEZ-CORDOVÉZ; BEGOÑA, 2005). O Quadro 1 contém as principais fontes dietéticas e os constituintes químicos predominantes dos metabólitos secundários.

**Quadro 1** Grupos de flavonoides, fontes dietéticas e seus constituintes químicos predominantes.

<b>Flavonoide</b>	<b>Fontes alimentares</b>	<b>Constituintes</b>
<b>Flavonas</b>	Cascas de maçãs Cerejas Brócolis Peles de frutas Cranberries Uvas Alfaces Oliva	Apigenina Chrisina Kaempferol Luteolina Miricetina Rutina Sibelina Quercetina
<b>Flavononas</b>	Frutas cítricas Peles de frutas cítricas	Alho Fisetina Hesperetina Narigina Naringenina Taxifolina
<b>Catequinas</b>	Vinho tinto Chá	Catequina Epicatequina Epigalocatequina galate
<b>Antocianinas</b>	Açaí, cerejas Uvas Raspberries Uvas vermelhas Morangos Chá Peles de frutas pigmentos escuros	Cianidina Delfinidina Malvidina Pelargonidina Peonidina Petunidina

Fonte: VOLP *et al.*, 2008; COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009.

#### 2.4 AÇAÍ: CONTEÚDO NUTRICIONAL

O açaí possui um rico conteúdo nutricional constituído por ácidos graxos polinsaturados (13,3%), monoinsaturados (60,6%), saturados (26,1%), ácidos graxos linoleico (12,5%), oleico (56,2%), palmítico (24,0%),  $\beta$ -sitoesteróis (0,44 mg/g

matéria seca), aminoácidos (0,48 mg/g em matéria seca), vitaminas do complexo B (0,25mg/100g), minerais cálcio, potássio, magnésio e ferro, além de fibras como as lignanas presentes em menores quantidades (<0,01% do extrato), porém exibindo ação antioxidante (SCHAUSS *et al.*, 2006a; 2006b; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008; CHIN *et al.*, 2008). Adicionalmente, apresenta um rico conteúdo em compostos fenólicos como as antocianinas e outros flavonoides (SCHAUSS *et al.*, 2006<sup>a</sup>; 2006b; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009; KANG *et al.*, 2010). Segundo Rogez (2000), Schauss *et al.* (2006a) e Menezes, Torres e Srur (2008) que estudaram a composição nutricional e fitoquímica da polpa de açaí e do açaí liofilizado, ficou demonstrado que o fruto apresenta elevado teor energético e bom conteúdo de vitaminas, minerais e fibras, conforme descrito nos Quadros 2 e 3 e Tabela 1.

**Quadro 2** Composição nutricional da polpa de açaí.

<b>Nutrientes</b>	<b>Polpa de açaí 100g</b>
Energia	~660 Kcal
Proteínas	13g
Lipídeos	48g
Açúcares totais/fibras	45g
Cinzas	3,5g
Tiamina	0,25 mg
Tocoferol	45 mg
Sódio	56,4 mg
Potássio	982 mg
Cálcio	286 mg
Magnésio	174 mg
Ferro	1,5 mg
Cobre	1,7 mg
Zinco	7,0 mg
Fósforo	124 mg

Adaptado de ROGEZ, 2000.

**Quadro 3** Composição nutricional do açaí liofilizado

Nutrientes	Açaí liofilizado 100g
Energia	489,4 Kcal
Proteínas	8,13g
Lipídeos	40,7g
Açúcares totais/fibras	42,5g
Cinzas	3,7g
Sódio	56,4 mg
Potássio	900 mg
Cálcio	330 mg
Magnésio	124,4 mg
Ferro	4,5 mg
Cobre	2,15 mg
Zinco	2,8 mg
Fósforo	54,5 mg

Adaptado de MENEZES; TORRES; SRUR, 2008.

**Tabela 1** Perfil nutricional do açaí liofilizado em matéria seca

Parâmetro	100g/ matéria seca
Calorias	533,9
Calorias dos lipídios	292,6
Lipídios totais	32,5 g
Lipídios saturados	8,1 g
Colesterol	13,5 mg
Sódio	30,4 mg
Carboidratos	52,2 g
Fibras	44,2 g
Açúcares	1,3 g
Proteínas	8,1 g
Vitamina A	1002 UI
Vitamina C	<0,1 mg
Cálcio	260 mg
Ferro	4,4 mg

Fonte: SCHAUSS *et al.*, 2006a.

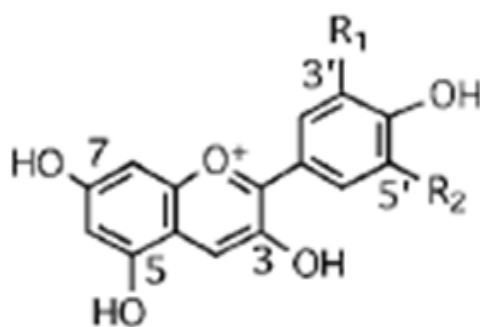
Como observado no Quadro 2, a quantidade de carboidratos na polpa liofilizada pode ter sido mascarada pelo teor de fibras, que não foi analisado pelos autores na composição centesimal, o que mostrou valor energético total menor, se observado o valor dos açúcares totais (MENEZES; TORRES; SRUR, 2008)

## 2.5 AÇAÍ E ANTOCIANINAS MAJORITÁRIAS

As antocianinas são pigmentos das plantas, solúveis em água e particularmente evidentes em frutas e tecidos florais sendo responsáveis por uma diversa faixa de cores que variam do vermelho, azul a roxo (JAGANATH; CROZIER, 2010). Elas ocorrem principalmente como glicosídeos e apresentam em sua estrutura química, um resíduo de açúcar na posição três, facilmente hidrolisado por aquecimento com ácido clorídrico (HCl 2 N). Como produtos desta hidrólise obtém-se o componente glicídico e a aglicona, denominados antocianidinas (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009).

As antocianinas encontradas em alimentos são todas derivadas das agliconas pertencentes a três pigmentos básicos: pelargonidina (cor vermelha), cianidina (cor vermelha) e delphinidina (cor violeta) (VOLP *et al*, 2008). Estas substâncias estão envolvidas na proteção de plantas contra luz excessiva, exercendo importante papel na atração de insetos polinizadores (JAGANATH; CROZIER, 2010; YI *et al.*, 2010).

Na natureza existem dezessete antocianinas, mas somente seis delas são de importância dietética: cianidina, delphinidina, petunidina, pelargonidina, peonidina e malvidina (YI *et al.*, 2010), representadas quimicamente na Figura 8a e Tabela 2.



**Figura 8a** Estrutura química da antocianina.

Fonte: JAGANATH; CROZIER, 2010.

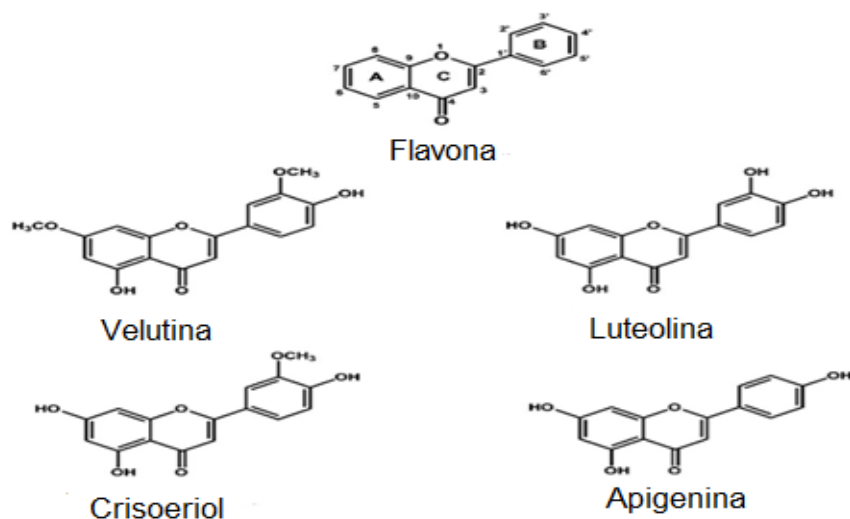
**Tabela 2** Antocianinas de importância dietética

<b>Antocianidinas</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	H
Petunidina	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Fonte: JAGANATH; CROZIER, 2010.

Estudos anteriores identificaram antocianinas majoritárias na polpa de açaí congelada, sendo as principais: cianidina 3-rutinosídeo (88%), seguida da cianidina 3-glucosídeo (12%), do conteúdo total de antocianinas em frações monoméricas (ROSSO *et al.*, 2008). Polpas de açaí produzidas de frutos de mesmos açazeiros, porém coletados em anos diferentes, foram estudadas para análise do conteúdo de antocianinas, sendo verificado nestes frutos que o teor dos polifenóis variou entre 88 a 211 mg/L, com predominância de cianidina 3-glucosídeo e 3-rutinosídeo (LICHTENTHALER *et al.*, 2005). A cianidina 3-rutinosídeo variou de 193 mg a 241,8 mg EAG/100g e cianidina 3-glucosídeo entre 11,1 a 117 mg EAG/100g. Outras antocianinas também foram encontradas no açaí, como a cianidina-3 arabinosil, arabinosídeo e acetil-hexose (POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004; LICHTENTHALER *et al.*, 2005).

Outros flavonoides predominantes e encontrados no açaí foram a orientina, quercetina e proantocianidinas com concentrações de 1298 mg/100g em matéria seca (SCHAUSS *et al.*, 2006b; PACHECO-PALENCIA; DUNCAN; TALCOTT, 2009). Estudo recente destacou como antocianina predominante e correlacionada com a capacidade antioxidante do fruto, a cianidina 3-glucosídeo (1040 mg/L) (DEMBITSKY *et al.*, 2011). A flavona velutina isolada da polpa de açaí demonstrou forte atividade anti-inflamatória por seus efeitos na redução da ação de lipopolissacarídeos indutores de citocinas pró-inflamatórias (XIE *et al.*, 2011). Na Figura 8b estão representadas as principais flavonas do açaí, a saber: velutina, crisoeriol, luteolina e apigenina que exercem forte atividade anti-inflamatória, antioxidante e cardioprotetora (RATHEE *et al.*, 2009).



**Figura 8b** Estruturas químicas de quatro flavonas do açaí  
 Fonte: XIE *et al.*, 2012.

Na Tabela 3 está descrito o conteúdo total de antocianinas em diversas amostras de açaí, polpa de açaí e suas antocianinas majoritárias que exercem papel antioxidante e anti-inflamatório nos fluidos biológicos (Figura 9).

**Tabela 3** Conteúdo de antocianinas em amostras de açaí

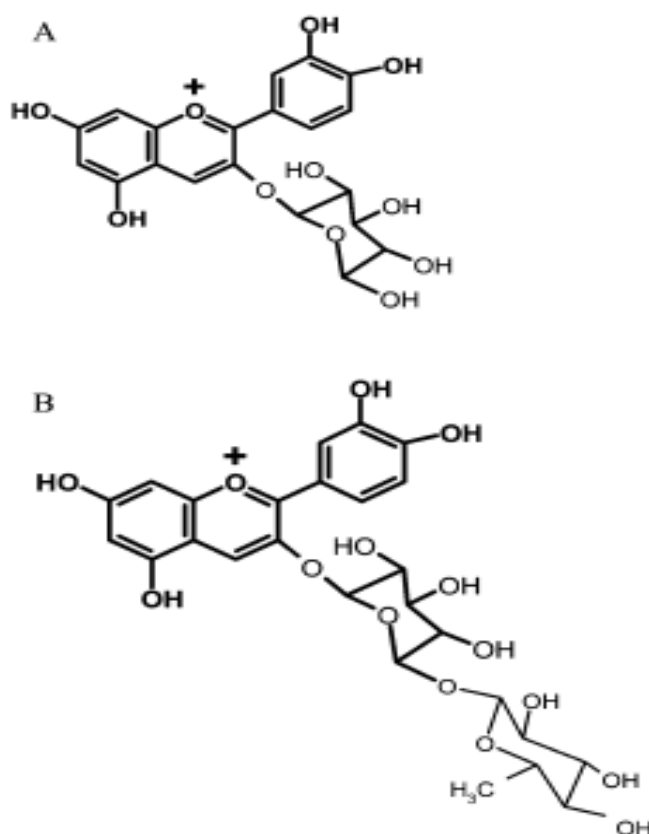
	Cianidina 3-glucosídeo	Cianidina 3-rutinosídeo	$\Sigma$ -Antocianinas
Açaí grosso I (13,9 g/100 mL MS)	7	456	463
Polpa Açaí 2002 (10,0 g/100 mL MS)	54	157	211
Açaí fino I (7,7 g/100 mL MS)	5	106	111
Açaí médio I (11,5 g/100 mL MS)	1	99	100
Polpa Açaí 1998 (10,0 g/100 mL MS)	19	79	98
Açaí grosso II (13,4 g/100 mL MS)	19	76	95
Polpa Açaí 2000 (10,0 g/100 mL MS)	27	61	88
Açaí médio II (10,0 g/100 mL MS)	7	67	74
Açaí fino II (6,5 g/100 mL MS)	6	24	30
Polpa Açaí 2001 baixa temporada (10,0 g/100 mL MS)	5	8	13
Açaí Branco (10,0 g/100 mL MS)	0	1	1

$\Sigma$ = somatório; MS= matéria seca

Fonte: LICHTENTHALER *et al.*, 2005.

Frutas vermelhas estão sendo extensamente estudadas e a atividade antioxidante desses alimentos já foi anteriormente reportada (RUFINO *et al.*, 2010; DEMBITSKY *et al.*, 2011), porém, no açaí os componentes que apresentaram maior atividade antioxidante foram as antocianinas, cujo potencial contra radicais livres foi maior do que o observado em uvas, mirtilos, morangos e framboesas (SCHAUSS *et al.*, 2006b). Por outro lado, foi observado no açaí conteúdo baixo a moderado em fenólicos totais, entre 13,9 mg/g em equivalentes de ácido gálico (EAG), valores estes menores que os encontrados em frutas como ameixa e mirtilos (33,0 mg/g EAG) (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

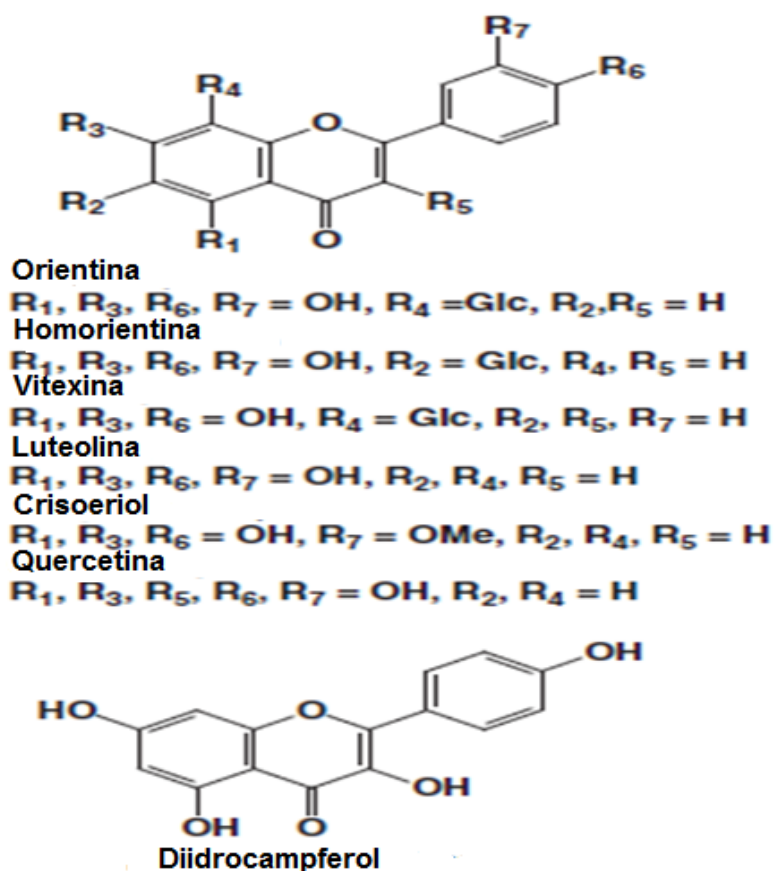
Na Figura 9 estão representadas as estruturas químicas das antocianinas majoritárias do açaí (A: cianidina 3-O glicosídeo e B: cianidina 3-rutinosídeo).



**Figura 9** Cianidinas majoritárias do açaí  
Fonte: JAGANATH e CROZIER, 2010; DEMBITSKY *et al.*, 2011.

Em alimentos, frutos e extratos vegetais são utilizados métodos de análise de atividade antioxidante pela avaliação da capacidade de sequestro de radical livres, como por exemplo os métodos de sequestro do radical ABTS e DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), redução de íons férricos (FRAP), sistema betacaroteno-ácido linoleico e ORAC, método este, muito utilizado por estar relacionado à capacidade de sequestro e de absorbância de radicais de oxigênio, em reação que ocorre em temperatura similar a corporal (37 °C) (RUFINO *et al.*, 2010).

KANG *et al.* (2010) isolaram por métodos cromatográficos, sete dos principais flavonoides no açai liofilizado, a saber: orientina, homorientina, vitexina, luteolina, crisoeriol, quercetina e diidrocampferol. Os autores testaram a atividade antioxidante desses compostos *in vitro* e *in vivo* e observaram que estes flavonoides exibiram habilidade como agentes anti-inflamatórios, antioxidantes e pró-apoptóticos em estudo com cultura de células. Na Figura 10 estão demonstrados os metabólitos secundários majoritários no açai.



**Figura 10** Metabólitos secundários majoritários do açai.

Fonte: DEMBITSKY *et al.*, 2011.



Segundo o estudo de KANG *et al.* (2010), os compostos crisoeriol, quercetina e diidrocampferol puderam penetrar no citosol e tiveram a habilidade em reduzir o dano oxidativo intracelular, principalmente os compostos homorientina, vitexina, crisoeriol e diidrocampferol que promoveram efeitos significativos na redução da formação de radicais livres de oxigênio (ROS) em células polimorfonucleares (PMN), as quais produziram elevadas quantidades de ROS sob estresse oxidativo. Deve ser ressaltado que estes mesmos autores elucidaram pela primeira vez no açaí, os compostos vitexina/quercetina que possuem ação anti-trombótica e cardioprotetora.

O açaí é um fruto que não apresenta somente um rico conteúdo em antocianinas (111 mg/100g), mas também de outros flavonoides (91,3 mg/100g) e clorofila (20,8 mg/100g) (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Na Tabela 4 estão representados os principais compostos bioativos de frutas exóticas nacionais, entre elas o açaí, segundo estudo de RUFINO *et al.* (2010).

**Tabela 4** Compostos bioativos e umidade em 18 frutas exóticas tropicais brasileiras (mg/100g matéria fresca<sup>a</sup>).

Frutas	Vitamina C	Antocianinas totais	Flavonoides amarelos	Carotenoides	Clorofila	Umidade
Açaí	84,0 ± 10	111 ± 30,4	91,3 ± 20,6	2,8 ± 0,4	20,8 ± 3,8	84,1 ± 2,8
Acerola	1357 ± 9,5	18,9 ± 0,9	9,6 ± 1,4	1,4 ± 0,1	n.d.	91,0 ± 0,2
Bacuri	2,4 ± 0,3	0,3 ± 0,2	16,9 ± 1,7	-	n.d.	73,7 ± 8,0
Cajá	26,5 ± 0,5	-	7,1 ± 0,7	0,7 ± 0,0	n.d.	86,4 ± 0,9
Caju	190 ± 5,7	9,5 ± 4,6	63,8 ± 26,5	0,4 ± 0,1	n.d.	86,9 ± 0,6
Camu-camu	1882 ± 43,2	42,2 ± 17,0	20,1 ± 4,4	0,4 ± 0,0	n.d.	89,8 ± 0,5
Camaúba	78,1 ± 2,6	4,1 ± 0,1	66,4 ± 2,3	0,6 ± 0,2	4,2 ± 0,2	70,7 ± 0,6
Gurguri	27,5 ± 0,2	3,3 ± 0,2	41 ± 1,5	4,7 ± 0	n.d.	74,7 ± 3,7
Jaboticaba	238 ± 2,2	58,1 ± 0,9	147 ± 42,5	0,32 ± 0,1	n.d.	85,9 ± 0,4
Jambolão	112 ± 5,8	93,3 ± 3,4	70,9 ± 1,2	0,51 ± 0,1	0,9 ± 0,2	84,9 ± 0,3
Juçara	186 ± 43,3	192 ± 43,2	375 ± 87,6	1,9 ± 0,5	21,5 ± 4,1	90,2 ± 1,3
Mangaba	190 ± 1,91	0,4 ± 0,11	15 ± 1,1	0,3 ± 0,05	n.d.	90,8 ± 1,2
Murici	148 ± 4,0	0,5 ± 0,1	13,8 ± 0,5	1,1 ± 0,1	n.d.	60,6 ± 0,7
Murta	181 ± 1,8	143 ± 0,5	207 ± 8,2	0,5 ± 0,1	5,0 ± 0,5	74,1 ± 2,2
Puçá-coroa-de-frade	41,1 ± 6,7	3,7 ± 0,8	17,7 ± 2,0	3,4 ± 0,1	n.d.	62,6 ± 0,2
Puçá-preto	28,9 ± 1,4	103 ± 21,6	143 ± 12,6	4,2 ± 0,4	5,6 ± 1,1	64,1 ± 0,8
Umbu	18,4 ± 1,8	0,3 ± 0,2	6,9 ± 1,7	1,0 ± 0,2	n.d.	87,9 ± 0,1
Uvaia	39,3 ± 5,2	1,13 ± 0,1	17,5 ± 1,6	1,7 ± 0,1	n.d.	89,3 ± 1,2

<sup>a</sup> Valores apresentados como média ± DP; n = 3; n.d. = não determinado.

Adaptado de RUFINO *et al.*, 2010.

Estudos epidemiológicos com açaí têm sido conduzidos e demonstram a correlação positiva entre a alta ingestão dietética de compostos fenólicos e

flavonoides, através do maior consumo de frutas e vegetais e a redução do risco de aparecimento de doenças crônicas (LIU, 2003; HOGAN *et al.*, 2010; CHUN FU *et al.*, 2013). Os efeitos dessas fontes dietéticas se dão pelo mecanismo protetor dos compostos fenólicos e flavonoides em sequestrar e neutralizarem diretamente os ROS, porém, está bem estabelecido que a combinação de agentes antioxidantes na dieta usual pode aumentar a eficiência de ação dos compostos bioativos na diminuição da toxicidade dos ROS e, portanto, serem mais eficientes como antioxidantes no meio biológico (LIU, 2003).

Rufino *et al.* (2010) estudaram grande variedade de frutas exóticas brasileiras e quantificaram polifenóis extraíveis nas amostras selecionadas, verificando grande variação no conteúdo de compostos bioativos entre as espécies das frutas que foram estudadas (Tabela 4).

Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) investigaram o teor de polifenóis em 17 frutas do Equador e propuseram uma classificação relativa aos teores desses compostos em amostras de frutas, em equivalentes de ácido gálico (EAG), segundo três categorias de teores, a saber: baixo (<100 mg EAG/100 g), médio (100-500 mg EAG/100 g) e alto (> 500 mg EAG/100 g) com base em matéria fresca e teores: baixo (<1000 mg EAG/100 g), médio (1000-5000 mg EAG/100 g) e elevado (> 5000 mg EAG/100 g) em matéria seca (RUFINO *et al.*, 2010). Contudo, vários fatores podem afetar a composição nutricional do fruto, sua atividade antioxidante e a estabilidade de seus pigmentos, principalmente se utilizado em produtos processados (PACHECO-PALENCIA; HAWKIN; TALCOTT, 2007).

Pelo exposto, o consumo do açaí deve ser estimulado em virtude de seu conteúdo nutritivo e antioxidante, o que sugere ser benéfico para o controle do estresse oxidativo e na atenuação da resposta inflamatória induzida por doenças e atividades extenuantes.

O conteúdo de agentes bioativos do açaí confere potencial para sua utilização na dieta usual e para o desenvolvimento de suplementos nutricionais funcionais, não somente para atletas, mas também para diversas condições clínicas (DUTHIE *et al.*, 2006; PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010).

## 2.6 BIODISPONIBILIDADE DE POLIFENÓIS E ANTOCIANINAS

Evidências epidemiológicas indicam que o consumo de metabólitos secundários, entre eles os polifenóis, presentes em frutas e vegetais, podem potencialmente contribuir para a saúde humana. Essas substâncias exercem importantes funções na regulação de processos biológicos normais e patológicos (CARDONA *et al.*, 2013).

As implicações para a saúde relacionadas à ingestão de flavonoides e compostos fenólicos são também dependentes da composição dos componentes da dieta e da biodisponibilidade de seus compostos individuais (JAGANATH *et al.*, 2006).

Pesquisas sobre absorção e biodisponibilidade de compostos fenólicos e flavonoides em humanos revelam que a maioria destes fitoquímicos são modificados durante a absorção, a partir do intestino delgado através de mecanismos de conjugação e metabolismo no intestino grosso, principalmente por ações da microbiota e subsequente metabolismo hepático (MANACH *et al.*, 2004).

Informações recentes reportaram os efeitos benéficos dos polifenóis, em parte por ação de seus metabólitos convertidos após a ingestão pela microbiota intestinal, microsomas hepáticos e hepatócitos, com a posterior disponibilidade no plasma e excreção através das fezes e urina (CHIOU *et al.*, 2013).

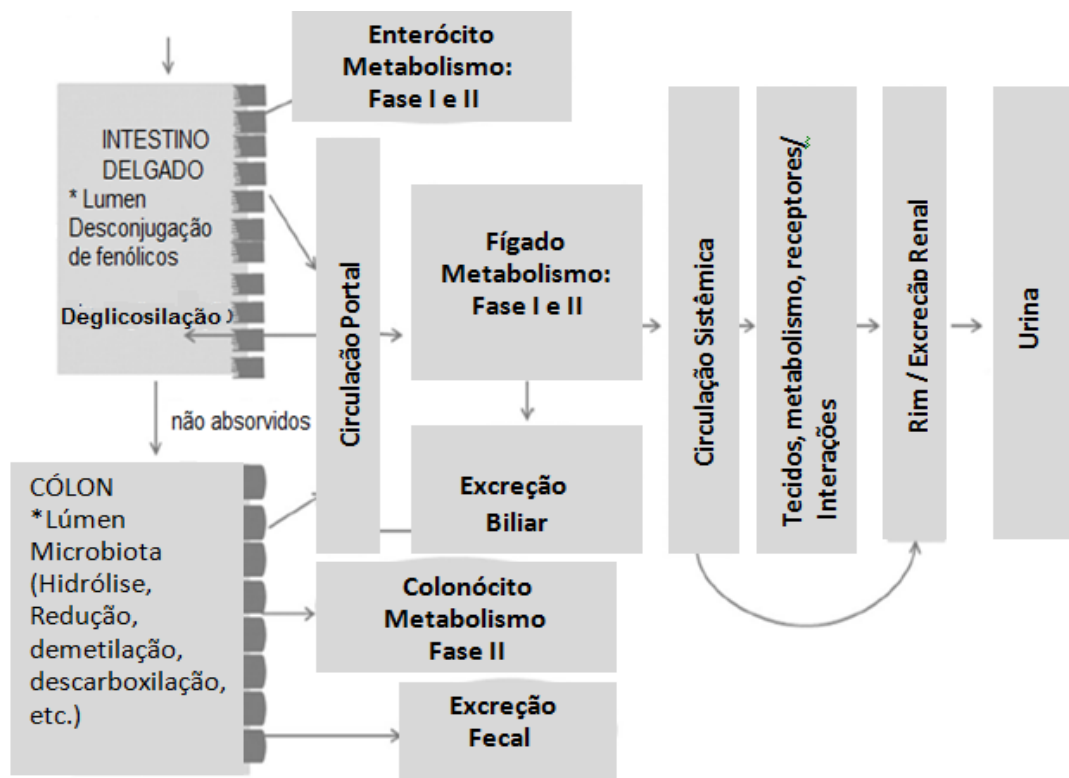
Nas plantas, a maior parte dos polifenóis encontra-se em suas formas glicosiladas, embora formas modificadas por polimerização ou esterificação também sejam encontradas (APPELDOORN *et al.*, 2009). Os polifenóis quando ingeridos são reconhecidos no organismo como xenobióticos, portanto, sua biodisponibilidade é relativamente baixa quando comparada aos nutrientes essenciais da dieta (CARDONA *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos podem ser rapidamente absorvidos no intestino delgado, dependendo do grau de complexidade estrutural e de reações de polimerização, através de seus polifenóis de baixo peso molecular (estruturas mono e diméricas), ou alcançar diretamente o intestino grosso sem modificações em suas formas oligoméricas ou poliméricas, como taninos condensados ou hidrolisados e sofrerem a ação da microbiota colônica (BOSSCHER *et al.*, 2009).

Somente 5 a 10% de polifenóis são absorvidos no intestino delgado, o remanescente (90-95%) acumula-se no intestino grosso e sofre a ação de enzimas

da microbiota intestinal, portanto, as bactérias intestinais são responsáveis por degradação significativa de polifenóis, transformando-os em uma série de metabólitos de baixo peso molecular que, sendo absorvidos, promovem os efeitos benéficos oriundos de uma dieta rica em polifenóis (CARDONA *et al.*, 2013).

Na Figura 11 está representada a rota, o mecanismo de absorção e a biodisponibilidade dos polifenóis em humanos. No organismo, polifenóis e seus metabólitos são submetidos à ação sucessiva de enzimas intestinais e de conjugação (fases I e II) no fígado, além da ação da secreção biliar. Na Figura 11 também está demonstrado o metabolismo intestinal e hepático dos polifenóis, sua passagem e absorção na circulação sistêmica, a interação com os órgãos do trato gastrointestinal e posterior excreção na urina.

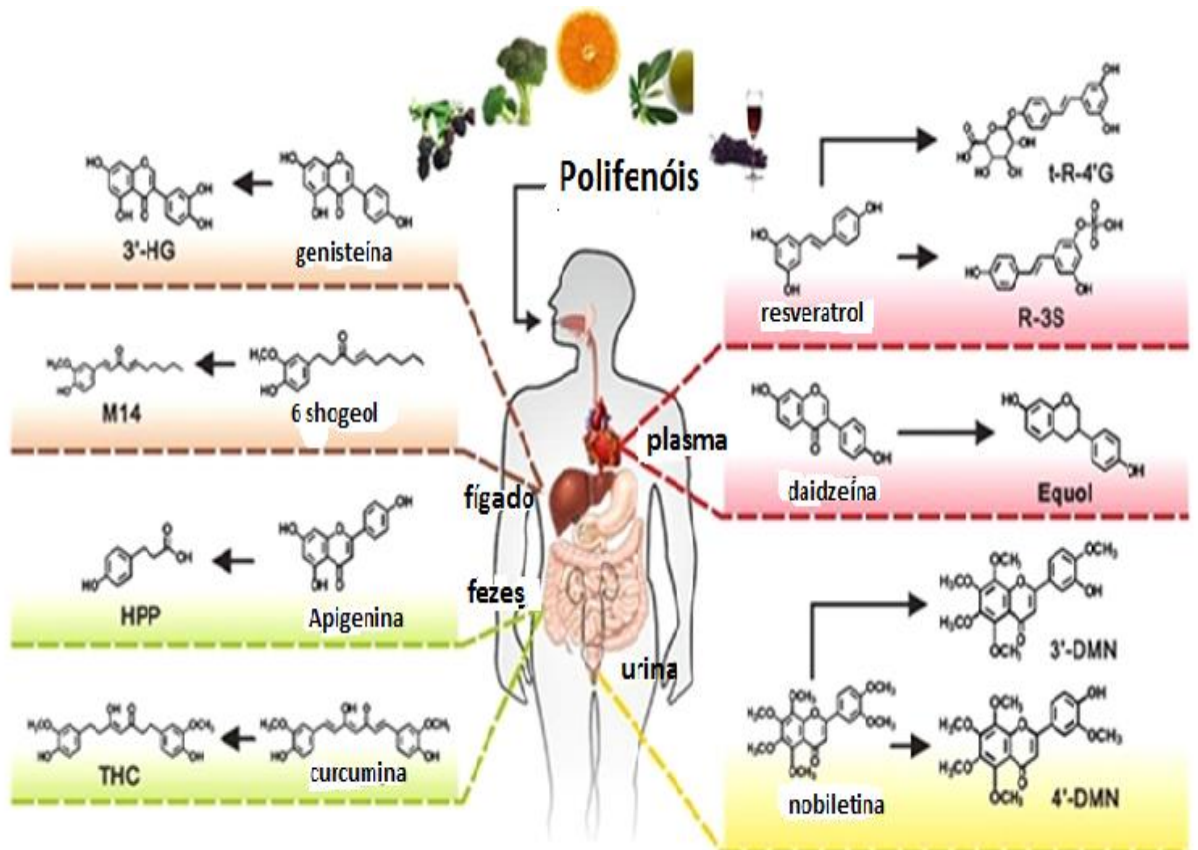


**Figura 11** Rota dos polifenóis dietéticos e seu metabolismo em humanos  
Adaptado de CARDONA *et al.*, 2013.

Os metabólitos dos polifenóis, quando alcançam tecidos e células, são química e funcionalmente distintos das formas dietéticas, e essas características fundamentam a bioatividade dessas substâncias (JAGANATH; CROZIER, 2010). Adicionalmente, muito baixas concentrações de compostos fenólicos e flavonoides

são absorvidos e aparecem na circulação (<10 µM), o que permite partir da premissa de que a funcionalidade desses compostos, como a de serem antioxidantes, doadores de moléculas de hidrogênio, se torna muito simplista em função de inúmeros fatores metabólicos e celulares que atuam e controlam para serem efetivos em mecanismos de sinalização redox (MANACH *et al.*, 2005; JAGANATH; CROZIER, 2010).

O esquema ilustrativo da Figura 12 (CHIOU *et al.*, 2013) demonstra alguns polifenóis dietéticos, com as cores de alimentos precursores e os metabólitos gerados por esses compostos, a saber: nobiletina (casca de tangerina: 4'demetilnobiletina-DMN); genisteína/daidzeína (soja, favas: hidroxisoflavona 7-O-glucosídeo/equol); curcumina (açafrão: tetrahydrocurcumina, THC); gengibre (6-shogeoil); apigenina (açai, salsa, aipo, camomila: ácido 3-fenil propiônico); resveratrol (vinhos, uva: 3,4,5' triidroxiestilbeno). A ilustração mostra também a possível eficiência dos agentes bioativos na promoção da saúde, segundo locais de ação dos compostos no organismo.



**Figura 12** Eficiência de metabólitos gerados por polifenóis da dieta na promoção da saúde.

Fonte: CHIOU *et al.*, 2013.

Tem sido sugerido que as células respondem a agentes bioativos através de interações diretas com receptores ou enzimas envolvidas na biossíntese de prostanoídes, em sinais de transdução ou através de modificações na expressão gênica (RATHEE *et al.*, 2009). Estas reações podem resultar em alterações do estado redox e modulação de cascatas de sinalização vitais à função celular, principalmente por ação dos flavonóides, o que culmina com a atenuação da resposta inflamatória, que ocorre por inibição da liberação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e ativação do fator de transcrição nuclear kB (NF $\kappa$ B) (LI *et al.*, 2007; RATHEE *et al.*, 2009).

Nos alimentos, os flavonóis se apresentam na forma de glicosídeos e estão parcialmente biodisponíveis em humanos (CARDONA *et al.*, 2013). Sob digestão são hidrolisados a agliconas pela enzima lactase florizina hidrolase difundindo-se nas células, após a metabolização nos enterócitos (metabolismo de fase II) a sulfatos, glucoronídeos e compostos metilados ou conjugados mistos (NEMETH *et al.*, 2003). Essa metabolização é fundamental para a manutenção das propriedades dos flavonóides relacionadas à absorção, efluxo e para seu transporte ativo no organismo (BARRINGTON *et al.*, 2009).

Estudos têm demonstrado que somente 0,002 a 0,003% de antocianinas na forma de glicosídeos estiveram presentes no plasma humano após três horas da administração de extratos de mirtilo (HASSIMOTO; GENOVESE; LAJOLO, 2009). Em investigação recente com ensaio de absorção *in vitro*, frações monoméricas de antocianinas do açaí (0,5-100  $\mu$ g de cianidina 3-glucosídeo) conseguiram inibir células indutoras de câncer de colón em aproximadamente 95%, e as frações poliméricas (0,5-100  $\mu$ g equivalentes de cianidina 3-glucosídeo/mL) induziram inibição de aproximadamente 92% (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010). Porém, estudos *in vitro* com células Caco-2 intestinais, mostraram que ambas as cianidinas foram similarmente transportadas com eficiência (0,5-4,9%) para as células em estudo. Ficou também demonstrado que as frações poliméricas puderam influenciar nas propriedades de absorção das antocianinas do açaí e seus metabólitos, reduzindo a biodisponibilidade dos compostos monoméricos (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010).

Contudo há poucos estudos *in vivo* demonstrando a biodisponibilidade de antocianinas e flavonóides. Alguns autores reportaram anteriormente que os

componentes químicos do açaí não se destacaram muito de outros componentes antioxidantes da dieta (PRIOR; GU, 2005), porém, vários trabalhos vêm sendo conduzidos com o fruto e seus derivados, que possibilitaram demonstrar as atividades farmacológicas do açaí e seus benefícios para a saúde (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011; HOGAN *et al.*, 2010; JENSEN *et al.*, 2008; 2009).

## 2.7 AÇAÍ: BENEFÍCIOS E ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

Os efeitos benéficos atribuídos ao açaí e seus derivados estão associados ao seu rico conteúdo em compostos fenólicos, o que estimulou pesquisadores a identificarem seus componentes e evidenciarem suas propriedades farmacológicas, que incluem atividades antiproliferativa, anti-inflamatória, antioxidante e cardioprotetora (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2010; HOGAN *et al.*, 2010; HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Estudos com extratos de frutas vermelhas de sete espécies em concentração de 5%, como morangos (*Fragaria ananasa*), mirtilo (*Vaccinium corymbosum*), amora silvestre (*Rubus fruticosus*), framboesas pretas (*Rubus occidentalis*), framboesa (*Rubus idaeus*), goji (*Lycium barbarum*), noni (*Morinda citrifolia*) e açaí (*Euterpe oleracea*) foram administrados na dieta usual de ratos para avaliar a capacidade antioxidante dos componentes bioativos na inibição de tumor induzido por oxidante (N-nitroso-metilbenzilamina). Os resultados mostraram que os extratos de todas as frutas foram capazes de inibir a ação carcinogênica de N-nitroso-metilbenzilamina na progressão de tumor esofágico, mesmo com diferenças nas concentrações de antocianinas nos diversos extratos das frutas vermelhas estudadas (STONER *et al.*, 2010; HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Trabalho anterior também demonstrou a alta capacidade antioxidante de amoras e açaí, quando comparada a 26 alimentos brasileiros incluindo vegetais, frutas e polpas congeladas de frutas (HASSIMOTTO; GENOVESE; LAJOLO, 2009). Os resultados para capacidade antioxidante nesses alimentos variaram de 0,73 a 19,8 mmol de butil-hidroxitouleno (BHT) em equivalente/grama (equiv/g), com valores maiores para amoras (19,8 mmol BHT equiv/g) e polpa de açaí (18,2 mmol BHT equiv/g).

Hogan *et al.* (2010) investigaram extratos ricos em antocianinas derivados de açaí liofilizado na proliferação de células C6 de glioma cerebral em ratos e em células de linhagem de câncer de mama (MD-468). Os autores concluíram que as antocianinas dos extratos de açaí contribuíram na redução da progressão do tumor pela atividade antiproliferativa sobre as células C6 do carcinoma estudado, quando comparadas aos controles não tratados e testados com mirtilos, amoras e goiaba.

Schauss *et al.* (2006b) estudaram os efeitos anti-inflamatórios do açaí liofilizado, através da inibição da atividade das enzimas cicloxigenase 1 e 2 e verificaram atividade anti-inflamatória leve do fruto pela inibição da atividade dessas enzimas. No entanto, os autores não usaram controles e tratamento estatístico para confirmar a evidência da atividade antioxidante e anti-inflamatória observada para o açaí liofilizado.

O uso de antioxidantes pode modular a produção excessiva de radicais livres de oxigênio e nitrogênio (RONS) que podem ser prejudiciais ao corpo humano (HOGAN *et al.*, 2010). Enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase auxiliam no controle da geração de RONS pela modulação do radical superóxido (JACKSON, 2008). O radical superóxido pode exercer papel de gerador de outras espécies de RONS, como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), peroxinitrito ( $ONOO^\bullet$ ) e hidroxila ( $OH^\bullet$ ). Neste sentido, o açaí se destaca por sua ação antioxidante, o que pode ser benéfico para a neutralização de RONS (SCHAUSS *et al.*, 2006b, HOGAN *et al.*, 2010; HEINRICH, DHANJI e CASSELMAN, 2011).

Schauss *et al.* (2006b) demonstraram, por métodos de sequestro de radicais de oxigênio (ORAC), a importante atividade antioxidante do açaí liofilizado quando comparado a outras frutas e vegetais. Estudo de JENSEN *et al.* (2008) analisou os efeitos antioxidantes de um suco comercial à base de uma mistura de frutas e açaí (Mona Vie<sup>®</sup>), na proteção contra o estresse oxidativo em culturas de células eritrocitárias (CAP-/RBCs) e PMN, através da medida da capacidade antioxidante *in vitro*. Os autores verificaram proteção significativa nas células pré tratadas com o suco comercial em todas as concentrações usadas no trabalho (0,016-10 g/L). Foi também realizado ensaio com 12 voluntários que consumiram 120 mL do suco (Mona Vie<sup>®</sup>) em estudo randomizado placebo controlado, para avaliar o aumento da capacidade antioxidante no plasma dos voluntários. Em adição, os



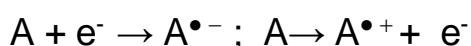
autores observaram a redução da peroxidação lipídica em repouso e uma e duas horas depois da ingestão da bebida, através da análise da atividade antioxidante dos indivíduos. A diferença entre suco e placebo foi significativa para o aumento da capacidade antioxidante e na redução da peroxidação lipídica, principalmente após a segunda hora da ingestão do suco comercial fortificado ( $p < 0,001$ ). Apesar de o estudo demonstrar uma tendência inovadora do açaí na modulação da peroxidação lipídica, não foi capaz de demonstrar claramente a composição nutricional e nutracêutica da bebida comercial consumida pelos voluntários (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Investigação recente apontou os efeitos antioxidantes em marcadores de peroxidação lipídica em ratos alimentados com dieta enriquecida com açaí liofilizado e comparou seus efeitos à dieta habitual ou hipercolesterolêmica. Foi verificado que o plasma dos ratos apresentou aumento de marcadores de perfil lipídico com as dietas habitual (controle) e hipercolesterolêmica. Por outro lado, a dieta enriquecida com açaí resultou em efeito hipocolesterolêmico, diminuindo o risco de aterogênese, pela redução de danos a proteínas e redução da atividade da superóxido dismutase (SOD), o que demonstrou importante atividade anti-inflamatória do fruto (SOUZA *et al.*, 2010).

## 2.8 RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO

O balanço redox no organismo é determinado pela presença de pares redox responsáveis pelo fluxo de elétrons em líquidos biológicos, organelas, células ou tecidos, sofrendo interconversões frequentes entre o estado reduzido e o oxidado, e coexistindo de forma interligada (“*redox cycling*”) ou como sistema redox-independente (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Radical livre pode ser definido como sendo qualquer espécie de molécula capaz de existência independente, com um ou mais elétrons não pareados em sua camada de valência e que apresenta maior reatividade se possuir em sua estrutura átomos de oxigênio, sendo então denominados radicais livres de oxigênio (ROS) (GONZALEZ *et al.*, 2007). Um radical livre pode ser formado pelo ganho ou perda de um único elétron por qualquer molécula não radicalar, expresso como:



As moléculas mais comuns convertidas a radical livre nos sistemas biológicos são o ânion superóxido ( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Outros radicais de oxigênio (ROS) são oriundos de reações secundárias destes radicais, como o radical hidroxiperoxila ( $HO_2^{\bullet}$ ), que está envolvido com reações de dismutação espontânea com o radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

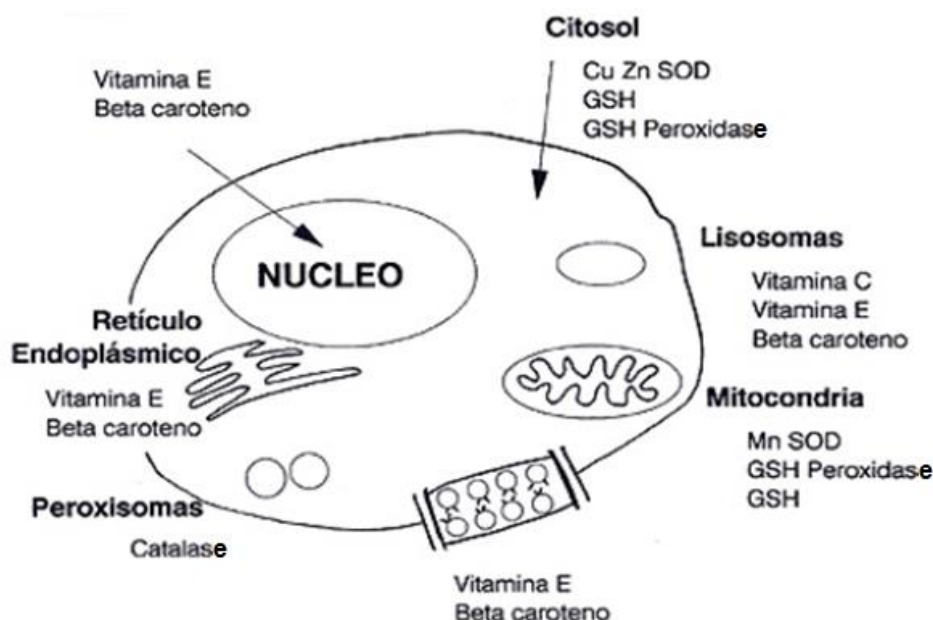
Na presença de radiações de alta energia (raios x e  $\gamma$ ) pode ocorrer radiólise da água com produção de radicais livres, como o radical hidroxila ( $H_2O \rightarrow H^{\bullet} + OH^{\bullet}$ ). A radiação ultravioleta (UV), na presença de moléculas sensíveis, pode promover a cisão homolítica do  $H_2O_2$  na pele e gerar radicais livres ( $H_2O_2 \rightarrow 2OH^{\bullet}$ ). Oxidases podem gerar  $H_2O_2$ , que ao se combinar com metais de transição, geram radicais hidroxila, através da reação de Fenton ( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet}$ ) (GONZALEZ *et al.*, 2007).

Células fagocíticas, como macrófagos, neutrófilos e monócitos, podem também gerar radicais livres através da atividade da NADPH oxidase, que catalisa a reação monoelétrica do  $O_2$  a  $O_2^{\bullet-}$ . Os ânions superóxido, quando liberados das vesículas dos fagócitos, podem ser protonados a radicais mais destrutivos para substâncias estranhas e bactérias como o radical hidroperoxila ( $HO_2^{\bullet}$ ),  $H_2O_2$  (peróxido de hidrogênio) e o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), pela reação de Fenton. Ademais, podem reagir com o ácido hipocloroso (HOCl) produzido pela mieloperoxidase dos fagócitos, gerando  $OH^{\bullet}$  que, por decomposição espontânea, pode gerar gás cloro ( $Cl_2$ ), de grande toxicidade celular para bactérias (GONZALEZ *et al.*, 2002; JACKSON; PYE; PALOMERO, 2007).

Como citado, a célula é uma grande fonte de ROS por ação de várias enzimas presentes nas membranas de macrófagos e neutrófilos, como as NADH oxidases que, se ativadas, produzem radical superóxido como ação para eliminar agentes agressores (GONZALEZ *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2007). No entanto, a geração das espécies reativas dependerá do dano em curso e do tipo de célula, já que também possuímos grande distribuição de antioxidantes, enzimas de detoxificação e proteínas ligadas a metais de transição, que constituem o sistema de defesa antioxidante em membranas e organelas celulares, tais como: **Citoplasma:** xantina oxidase, riboflavina, catecolaminas, hemoglobina, ferritina,  $Fe^{++(+)}$  e  $Cu^{+(+)}$  (metais de transição), metalotioneína, vitamina C, Glutathione redutase (GSH), Superóxido dismutase (CuZn SOD), Glutathione peroxidase (GPx), Glutathione transferase (GT); **Núcleo:** Vitamina E, GSH, MnSOD, GT, GPx, metalotioneína;

**Retículo endoplasmático e lisossomas:** citocromo P450, enzimas hidrolíticas dos lisossomas, Vitamina E e  $\beta$ -caroteno; **Peroxisomas:** Oxidases, flavoproteínas, catalase; **Complexo de golgi:** Vitamina E,  $\beta$ -caroteno, GSH, GT, GPx; **Mitocôndria:** cadeia de transporte de elétrons, Vitamina E, GSH, MnSOD, GPx; **Membrana celular:** Prostaglandina sintase, NADPH oxidase, lipoxigenase, Vitamina E e  $\beta$ -caroteno (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

A Figura 13a ilustra um resumo da localização celular dos antioxidantes do sistema de defesa endógeno.



**Figura 13a** Localização celular dos antioxidantes de defesa endógenos.

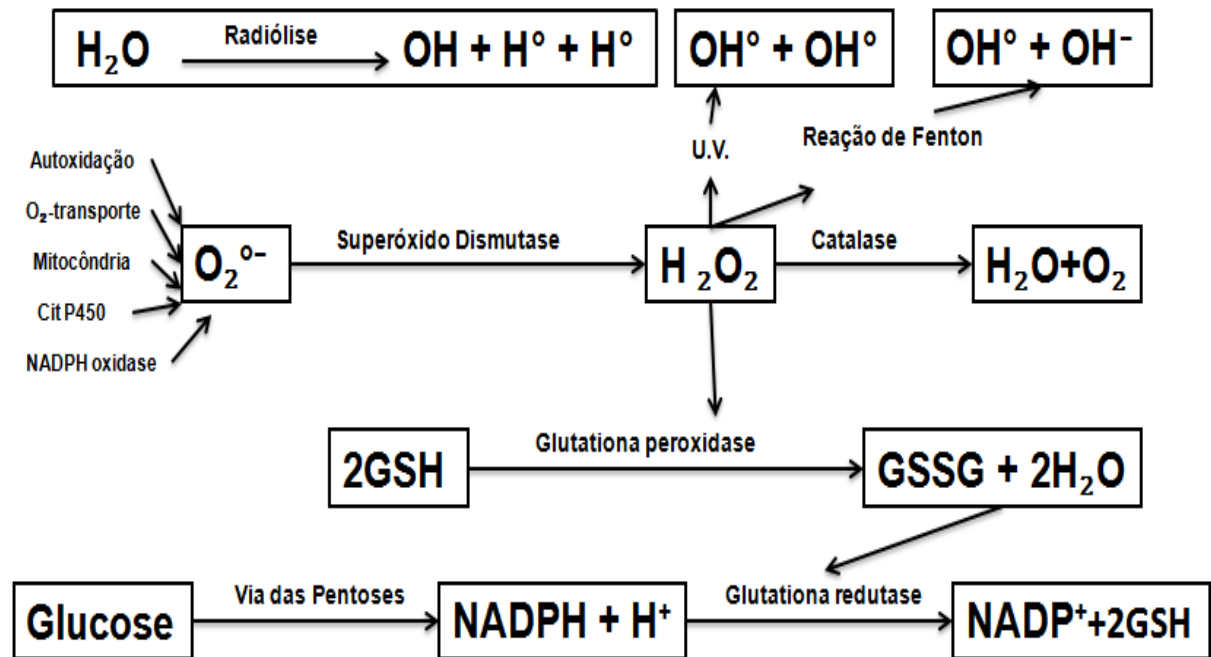
Fonte: [http://3.bp.blogspot.com/\\_2UX2vUcBqWE/TOe6H0LnBXI/AAAAAAAAAhg/1jq--R94Fbw/s1600/local1.jpg](http://3.bp.blogspot.com/_2UX2vUcBqWE/TOe6H0LnBXI/AAAAAAAAAhg/1jq--R94Fbw/s1600/local1.jpg)<<Acesso em 10/12/2013>

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e ação reduzida de antioxidantes endógenos e exógenos, pode induzir estresse oxidativo, que ocasiona dano celular em macromoléculas como proteínas, DNA e lipídios. Sua manifestação em nível sistêmico pode promover envelhecimento precoce, injúria tecidual e doenças crônicas (VASCONCELOS *et al.*, 2007; POWERS *et al.*, 2011). O estresse oxidativo pode ser também denominado como uma condição de desequilíbrio entre pró-oxidantes (RONS), com a reduzida expressão do sistema de defesa

antioxidante do organismo, cujo mecanismo serve de proteção celular, quando há excesso na produção de radicais livres (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Atualmente, o conceito “estresse oxidativo” vem passando por modificações pela complexidade do balanço redox celular e, recentemente, sua melhor definição seria “*desbalanço entre antioxidantes e oxidantes em favor dos oxidantes levando à ruptura no controle e na sinalização redox*” (POWERS *et al*, 2011).

No esquema ilustrativo da Figura 13b, estão representadas as reações gerais de formação de radicais livres, o papel do sistema enzimático endógeno representado pela atividade das enzimas superóxido dismutase, glutaciona peroxidase, glutaciona redutase e catalase, cujas ações possibilitam manter a homeostasia celular e redox no controle da formação de radicais livres no organismo (JACKSON, 2008).

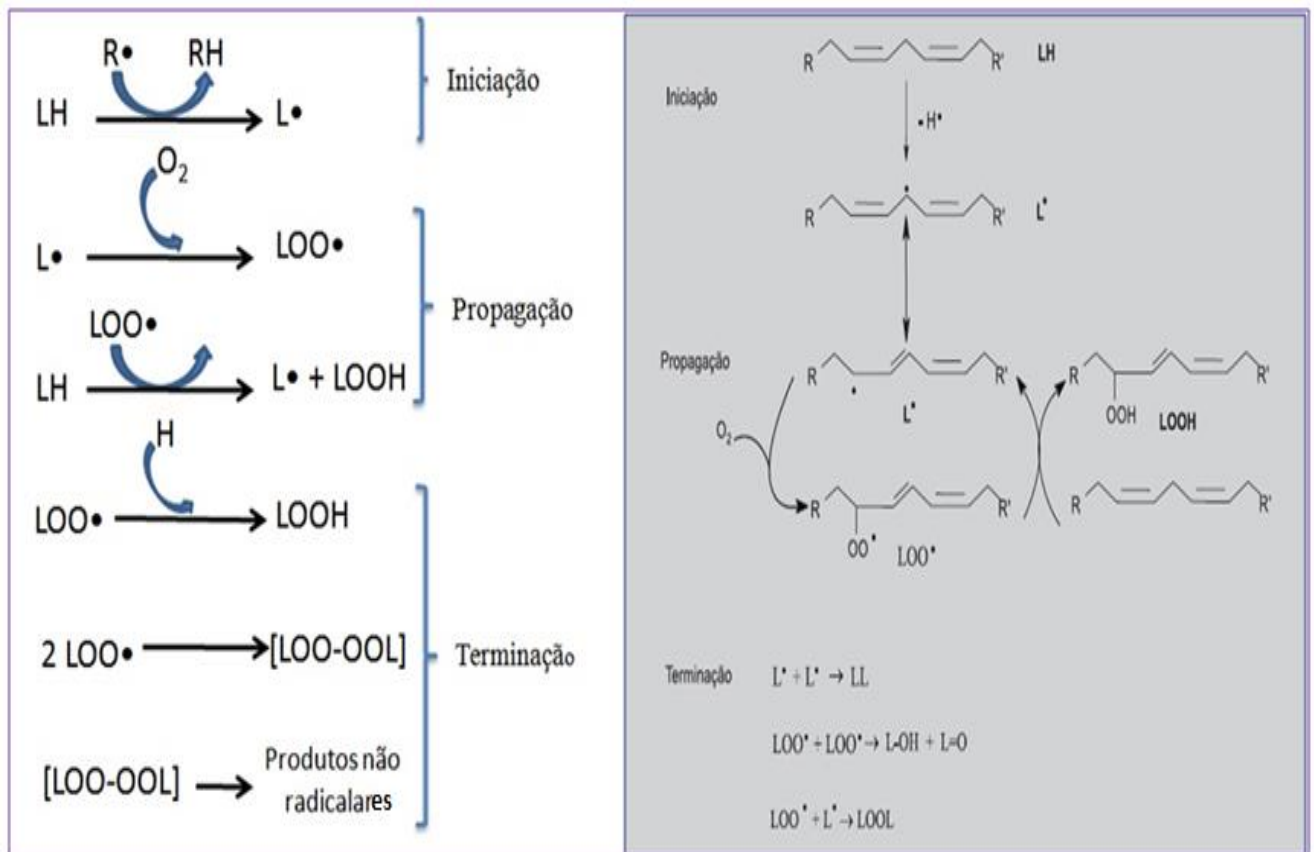


**Figura13b** Esquema geral de formação de radicais livres no organismo. Produto final comum  $H_2O_2$  no centro do esquema. Sistemas de degradação específicos mantêm níveis controlados de ROS.  $OH^\bullet$ -hidroxila;  $H_2O_2$ - peróxido de hidrogênio;  $O_2^{\bullet-}$  superóxido; GSH-glutaciona reduzida; GSSG- glutaciona oxidada; NADPH/NADP- nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato reduzida/oxidada.

Adaptado de fonte GONZALEZ *et al.*, 2002.

A peroxidação lipídica é outro mecanismo indutor de estresse oxidativo, que altera o balanço redox celular, isto porque a oxidação de ácidos graxos polinsaturados, presentes nas membranas e organelas, aumenta a formação de radicais peroxila e hidroperóxidos lipídicos que podem ser citotóxicos e deletérios para a célula

(VASCONCELOS *et al.*, 2007). Metais de transição como o ferro agem como potencializadores na propagação desses radicais, que podem gerar metabólitos como o malondialdeído (MDA), um indicador de peroxidação lipídica que pode alterar sinais de transdução redox e atacar bases nitrogenadas e resíduos de aminoácidos das proteínas (TORRES *et al.*, 2003). As três etapas da lipoperoxidação compreendem a iniciação, propagação e terminação gerando metabólitos não radicalares como hidrocarbonetos de cadeia curta (pentano e etano), aldeídos (MDA), 4-hidroxinonenal e epóxidos citotóxicos. Na Figura 14 está representado o mecanismo da lipoperoxidação e os metabólitos reativos oriundos do processo no organismo.



**Figura 14** Esquema do mecanismo da lipoperoxidação em ácidos graxos. LOO°, OOL, LOOH, LOO° (lipoperóxidos).

Fonte: <https://www.google.com.br/search?q=lipoperoxida%C3%A7%C3%A3o&client=firefox-a&hs=GIV&rls=org.mozilla:pt-BR:oficial&tbm>. Acesso em 10/12/2013.

As espécies reativas de oxigênio (ROS), de nitrogênio (RNS), entre outras espécies reativas como derivados de enxofre (RES), de cloro (RCL), de carbono (RC) e metais de transição são parte integrante do metabolismo humano. As espécies

podem ser geradas em diversas condições fisiológicas, como na atividade de células fagocíticas, na mitocôndria, em peroxissomas e através da atividade de uma série de enzimas citosólicas em resposta às demandas fisiológicas ou fisiopatológicas, como, por exemplo, na resposta inflamatória, no metabolismo de lipídios e induzida por situações adversas, como nas atividades aeróbias e anaeróbias extenuantes e doenças (VASCONCELOS *et al.*, 2007; GONZALEZ *et al.*, 2002; 2007).

As defesas endógenas podem exercer papel redutor em condições de estresse oxidativo, sendo exemplos de antioxidantes do sistema de defesa endógeno e de importância biológica: bilirrubina, urato, superóxido dismutase, glutathione peroxidase e redutase, catalase e tioredoxina redutase. As defesas exógenas ou o sistema de defesa antioxidante não enzimático incluem os carotenoides, polifenóis/flavonoides, tocoferóis, ascorbato e glutathione, que podem ser obtidos principalmente da dieta pelo consumo de frutas, vegetais e alimentos integrais. Portanto, alimentação e suplementação enriquecidas com extratos de frutas e vegetais ricos em compostos antioxidantes, podem ser requeridos em condições de maior necessidade metabólica, atenuando a formação de radicais livres deletérios (URSO; CLARKSON, 2003; GOLDFARB *et al.*, 2007; PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007). Nos Quadros 4a e 4b estão demonstrados as proteínas plasmáticas como transportadoras de metais de transição, além dos principais antioxidantes do sistema de defesa endógeno e suas funções.

**Quadro 4a** Proteínas plasmáticas ligadas a metais de transição

Transferrina	Glicoproteína sintetizada no fígado responsável pelo transporte de ferro na circulação sanguínea
Ceruloplasmina	Proteína ligadora de cobre
Ferritina	Proteína estocadora de ferro, ligando-se ao ferro intracelular
Albumina	Proteína de transporte do sangue, ligando-se ao ferro e ao cobre.
Haptoglobina	Liga-se à hemoglobina livre do plasma sanguíneo diminuindo sua ação pró-oxidante
Metalotioneínas	Proteínas encontradas no citosol, ricas em grupos de enxofre. Ligam-se a vários metais como o cobre, zinco, cádmio, mercúrio, etc.

Fontes: TORRES *et al.*, 2003; VASCONCELOS *et al.*, 2007.

**Quadro 4b** Antioxidantes dos sistemas de defesa endógeno e exógeno

Glutationa peroxidase (GPx)	Neutraliza o H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e outros peróxidos orgânicos
Superóxido dismutase (SOD)	Transforma o ânion superóxido em H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Catalase (CAT)	Neutraliza e remove o H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Vitamina E (Tocoferol)	Reage principalmente com radicais peroxila (LOO <sup>-</sup> ) da membrana celular formando hidroperóxidos (LOOH). O tocoferol forma radical tocoferoxil, o qual é relativamente estável
Vitamina C (Ascorbato)	Neutraliza vários ROS formados na fase aquosa celular, entre eles o O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , HOCl, OH.
Carotenoides	Neutralizam radicais oxigênio singlete e ROS formados nas membranas
Glutationa (GSH)	Reduz peróxidos (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , LOOH) a água ou álcool em reação catalisada pela GPX. Neutraliza radicais O <sub>2</sub> <sup>-</sup> e <sup>-</sup> OH. Reduz dehidroascorbato à ascorbato e controla a lipoperoxidação.

Fontes: TORRES *et al.*, 2003; VASCONCELOS *et al.*, 2007.

## 2.9 ESTRESSE OXIDATIVO E EXERCÍCIO

O exercício é reconhecido pelos seus benefícios terapêuticos e preventivos para uma série de doenças crônicas, atuando na manutenção da saúde cardiopulmonar, muscular, óssea e mental (LAUFS *et al.*, 2005).

Evidências sugerem que parte destes benefícios atribuídos à prática regular de atividade física, está relacionada à redução dos níveis de marcadores inflamatórios e do estresse oxidativo, principalmente se associada a bons hábitos alimentares (PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007).

A relação entre estresse oxidativo e inflamação induzida por doenças e exercício tem aumentado o interesse nos benefícios de suplementos antioxidantes na melhora da saúde, desempenho físico e mental (URSO; CLARKSON, 2003; McANULTY *et al.*, 2011; 2013). Níveis basais de RONS, produção e sua remoção ocorrem constantemente no organismo com efeitos positivos e negativos na função fisiológica, o que promove o equilíbrio ou desequilíbrio no *status* redox orgânico

(VASCONCELOS *et al.*, 2007). O estresse oxidativo induzido pelo exercício provoca uma resposta adaptativa que melhora a capacidade de defesa antioxidante endógena, porém em algumas situações, a suplementação com antioxidantes pode impedir os efeitos de promoção da saúde do exercício em humanos (RISTOW *et al.*; 2009).

O estado redox, ou de balanço redox, é representado pelo potencial de óxido-redução celular, comumente avaliado pela taxa de glutathiona, o maior antioxidante não enzimático celular, quando reduzida e oxidada (GSH/GSSG) ou outros compostos como tióis/dissulfetos (ALLEN; TRESINI, 2000). O aumento do estresse oxidativo pela elevação de RONS pode estar associado ao trabalho muscular intenso devido ao maior consumo de oxigênio corporal, o que pode elevar marcadores de peroxidação lipídica e danos celulares, com a consequente redução da capacidade antioxidante do plasma, o que poderia induzir inflamação transitória e aumentar o risco de doenças (CAZZOLA *et al.*, 2003; CHOLEWA *et al.*, 2008; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Mudanças do estado redox podem ser avaliadas pela concentração plasmática de vitaminas E, C e pela atividade de enzimas antioxidantes, como a glutathiona peroxidase, superóxido dismutase, catalase e glutathiona redutase, consideradas indicadores bioquímicos de controle de estresse oxidativo nos casos de desbalanço redox tecidual (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

O estresse oxidativo também pode ser avaliado pelo aumento da peroxidação lipídica, através da análise do MDA no plasma ou urina ou pela capacidade antioxidante total, através da análise de equivalentes em trolox no plasma (TEAC), pelo *status* antioxidante total no plasma (TAS), pela habilidade do plasma em reduzir íons férricos (FRAP), por parâmetro antioxidante segundo a concentração total de radicais livres (TRAP) e ORAC, uma medida da capacidade de sequestro de radicais de oxigênio no plasma, notadamente os radicais peroxila (VASCONCELOS *et al.*, 2007; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Evidências anteriores reportaram que a intensidade, volume e duração do exercício estão associados ao aumento de RONS, o que pode estar relacionado com a adaptação fisiológica ao treinamento regular, ao *overtraining* e atividades aeróbias e anaeróbias agudas, que parecem aumentar a produção de pró-oxidantes com a consequente elevação de marcadores de estresse muscular e oxidativo e



redução da força muscular (MORILLAS-RUIZ *et al*, 2006; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; JACKSON, 2008; 2009).

A atividade contrátil das fibras musculares esqueléticas gera ROS em um número de sítios subcelulares e a maior produção destes radicais é oriunda do consumo de oxigênio mitocondrial, cujo bioproduto do metabolismo é o radical superóxido, que está associado à indução de dano muscular (JACKSON, 2008). Contudo, algumas evidências reportaram que os ROS são gerados de forma controlada pelo músculo esquelético, em resposta a estímulos fisiológicos, exercendo importante papel nas adaptações fisiológicas induzidas pelas contrações musculares, fundamentais no processo de envelhecimento do músculo e no controle da sarcopenia (BLOOMER; GOLDFARB; MACKENZIE, 2006; JACKSON, 2009).

*a) Mecanismos de geração de radicais livres no exercício*

A atividade física aumenta a geração de radicais livres pelo aumento da fosforilação oxidativa em resposta ao exercício, por ação das catecolaminas, liberadas durante o esforço, pelo aumento do metabolismo prostanóide, da atividade da xantina oxidase/NADPH oxidase e de fontes secundárias oriundas da liberação de radicais livres por macrófagos, recrutados para reparar o dano muscular (JACKSON, 2008). A produção aumentada de radicais superóxido pela mitocôndria durante o exercício, tem como sítios primários os complexos I e III da cadeia de transporte de elétrons (POWERS *et al.*, 2011).

A atividade da fosfolipase A2 (PLA2) que cliva fosfolipídeos da membrana, pode também gerar radicais livres através da ação das lipoxigenases (RATHEE *et al.*, 2009). O aumento da atividade de enzimas pode estimular a formação de radicais livres, através da ativação de NADPH oxidases, que induzem a formação de ROS pela mitocôndria e citosol do músculo, provocando a liberação de ROS para o espaço extracelular (GONG *et al.*, 2006).

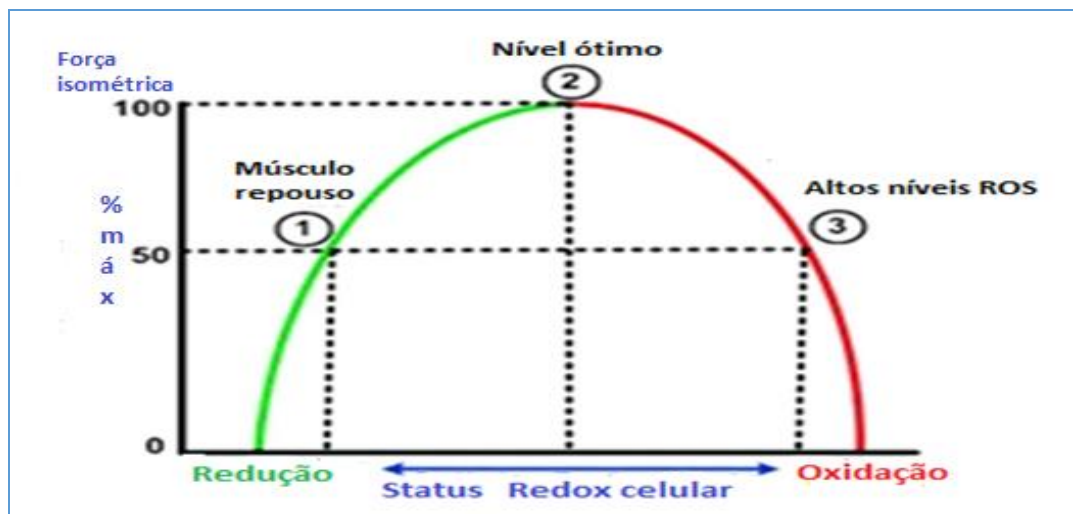
As células da série branca fagocíticas podem exercer papel na modificação do estado redox do músculo, depois da indução do dano muscular pelo exercício, propiciando migração de macrófagos na região lesada, mecanismo esse essencial para reparar o dano, porém, com grande formação de radicais livres no local, como o radical superóxido e o óxido nítrico (NO) (POWERS *et al.*, 2011).

Outro fator a ser destacado é a elevação da temperatura muscular, que favorece o aumento da pressão parcial do CO<sub>2</sub>, com conseqüente redução do pH

celular, o que predispõe aumento da formação de radicais livres no músculo (GONZALEZ *et al.*, 2007).

O exercício exaustivo aumenta a geração de radicais livres de oxigênio e a peroxidação lipídica, principalmente em intensidades superiores a 80-100% do  $VO_{2máx}$ , isto porque resulta na diminuição da disponibilidade de ATP, com aumento das taxas de produção de ADP, AMP e hipoxantinas, que são indutores de fadiga precoce (PINCEMAIL *et al.*, 2001; CHOLEWA *et al.*, 2008; PRADO *et al.*, 2011).

Na Figura 15 estão ilustrados os efeitos bifásicos dos ROS na produção de força no músculo esquelético, segundo Reid *et al.* (2001) e Powers *et al.* (2011). O ponto 1 descreve a força gerada pelo músculo em repouso, sem adição de antioxidantes e oxidantes; o ponto 2 demonstra a força produzida pelo músculo não fatigado, exposto a baixos níveis de ROS; e o ponto 3 ilustra os efeitos negativos do excesso de ROS na força muscular.



**Figura 15** Efeitos bifásicos dos ROS na produção de força muscular  
Adaptado de POWERS *et al.*, 2011.

Segundo os autores, a exposição a altos níveis de ROS pode alterar a estrutura de miofilamentos, aumentando a oxidação proteica e inibindo a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio (GUTIERREZ-MARTIN *et al.*, 2004). ROS derivados do músculo podem aumentar o cálcio intracelular, inibindo a atividade da  $Ca^{+2}$  ATPase e intensificando a fadiga (POWERS *et al.*, 2011).

Muitos mecanismos estão envolvidos com a geração de radicais livres pelo exercício. Inicialmente, o aumento de ROS pode estar associado à injúria causada

por hipóxia, que ocorre em exercícios aeróbios de alta intensidade, já que o consumo de oxigênio corporal nesta condição pode aumentar em 10 a 20 vezes em relação ao repouso. Esta condição eleva o fluxo de oxigênio nos músculos em cerca de 100 a 200 vezes acima do seu estado inicial e, portanto, aumenta o trabalho mitocondrial e o fluxo de elétrons na cadeia respiratória (GONZALEZ *et al.*, 2002; CHOLEWA *et al.*, 2008).

O aumento da utilização dos nutrientes durante o exercício intenso e a hipertermia ocasionam depleção energética e podem elevar o estresse muscular e mitocondrial. Essa depleção provoca o aumento de marcadores de injúria muscular, como creatina quinase total (CK), lactato desidrogenase (LDH), 3 metil-histidina e amônia que é considerada um indicador metabólico associado à redução da síntese de ATP e do pH do músculo, o que aumenta a formação de ROS e contribui para o surgimento de fadiga periférica e central (MONFORT *et al.*, 2002; NYBO *et al.*, 2005).

*b) Modulação de radicais livres no exercício intenso*

Estudos anteriores demonstraram que suplementos com substâncias bioativas podem modular a resposta induzida por atividades extenuantes reduzindo a injúria muscular e o estresse oxidativo em animais e humanos (GIAMMARIOLI, *et al.*, 2000; HOFMANN *et al.*, 2006; ZOPPI *et al.*, 2006; MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; McANULTY *et al.*, 2011; 2013).

Na Tabela 5 foram resumidos trabalhos que demonstraram o aumento do estresse oxidativo e muscular induzido por atividades extenuantes, através da análise da elevação de marcadores de injúria muscular e do estresse oxidativo. Nesta Tabela são apresentados estudos metabólicos com diferentes protocolos de exercícios, em intensidades submáximas e máximas em indivíduos treinados e não treinados. Os autores dos trabalhos mostraram os efeitos do exercício no metabolismo de voluntários e constataram que as atividades induziram elevação de marcadores bioquímicos de injúria muscular, observados pelo aumento da amônia ( $\text{NH}_3+\text{NH}_4^+$ ), urato, lactato, inosina monofosfato-IMP, hipoxantinas, enzimas de injúria hepática (creatinase quinase total-CK, Lactato desidrogenase-LDH, transaminases) e marcadores de estresse oxidativo (GPx, SOD, catalase, xantina oxidase), além do aumento de metabólitos tóxicos (MDA, F2-isoprostanos, hidroperóxidos, TBARs, homocisteína-Hcy) e de redução da capacidade total

antioxidante no plasma (CAT/relação GSSG/TGSH, FRAP). Em adição, também verificou-se que atividades intensas elevaram a resposta de citocinas pró-inflamatórias (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ).

**Tabela 5** Protocolos de exercício no aumento de marcadores de estresse muscular e oxidativo.

Referência	Sujeitos	Exercício	Protocolo	Parâmetros	Resultados
Ogino <i>et al</i> (2000). <i>Clin Exp Pharmacol Physiol</i>	10 ♂ treinados	Intenso, curta duração 15 min em cicloergômetro	≠ intensidades 80, 90, 100,110,120% Limiar ventilatório	NH <sub>3</sub> , lactato Hipoxantinas- IMP	5 a 10 min exercício ↑ NH <sub>3</sub> , lactato, hipoxantinas
Zhao <i>et al</i> (2000) <i>J Applied Physiol</i>	7 ♂ não Treinados	Intenso, curta duração, 30 s cicloergômetro (70 rpm)	Sprints, 55% VO <sub>2pico</sub> , recuperação 5-10 min	Lactato Hipoxantinas ADP+AMP+ IMP	↑hipoxantinas no músculo vasto lateral
Vassilakopoulos <i>et al</i> (2003). <i>J Applied Physiol</i>	6 ♂ não Treinados	Cicloergômetro	60 rpm = rampa 10W/min até exaustão	CK, TNF $\alpha$ , IL- 6, IL-1 $\beta$	↑CK, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$
Nybo <i>et al</i> (2005) <i>J Physiol</i>	29 ♂ treinados	Cicloergômetro 3h	60% VO <sub>2max</sub> até exaustão	NH <sub>3</sub>	↑ NH <sub>3</sub>
Morillas-Ruiz <i>et al</i> (2006). <i>Clin Nutr</i>	31 ♂ atletas	Exaustivo, cicloergômetro	45 a 90 min, 70% VO <sub>2max</sub>	MDA, CK, LDH, CAT	↑MDA, CK, LDH, CAT
Carvalho-Peixoto, Alves e Cameron (2007) <i>Applied Physiol Nutr Metabol</i>	15 ♂ atletas	Corrida em campo	77% VO <sub>2max</sub>	NH <sub>3</sub>	↑ NH <sub>3</sub>
Bassini-Cameron <i>et al</i> (2008) <i>Br J sports Med</i>	18 ♂ atletas	Corrida em campo/ esteira	Bruce modificado- 60 min, 60 a 80% FC <sub>max</sub>	NH <sub>3</sub> , marcadores inj. muscular	↑ NH <sub>3</sub> , marca- dores de inj. muscular
Bessa <i>et al</i> (2008) <i>Br J sports Med</i>	4 ♂ triatletas	Bicicleta e corrida em campo	200 km corrida -20 a 25 min até exaustão (1/4 cada atleta)	NH <sub>3</sub> , marcadores injúria muscular	↑ NH <sub>3</sub> , ↑injúria muscular
Cholewa <i>et al</i> (2008) <i>Sci Sports</i>	21 ♂ atletas	Basquete	Treinamento intenso 90 a 120 min	GPx, MDA, urato, SOD, CAT	↑GPx, MDA, urato, SOD,CAT
Tanskanen <i>et al</i> (2011) <i>Med Sci Sports Exerc</i>	35 ♂ militares	45 min exerc. Submáximo	60% VO <sub>2max</sub> corrida em campo	GSSG/TGSH MDA	↓ GSSG/ TGSH e ↑MDA
Gonçalves <i>et al</i> (2012) <i>J Int Soc Sports Nutr</i>	11 ♂ atletas	Jiu-jitsu	6 min de luta; 60 a 80 % FC <sub>Max</sub>	NH <sub>3</sub> , Injúria Muscular	↑ NH <sub>3</sub> , e inj. Muscular

CK-creatinoquinase total, TNF $\alpha$ -Fator de necrose tumoral alfa, IL-6/1 $\beta$ -interleucinas 6 e 1 $\beta$ ; NH<sub>3</sub>-Amônia, SOD-superóxido dismutase; GPx-glutationa peroxidase; GSSG/GSH- glutationa oxidada/reduzida; MDA-malondialdo; LDH-lactato desidrogenase; CAT-catalase; SOD-superóxido dismutase; ADP/AMP/IMP- dinucleotídeo de adenosina difosfato/monofosato/inosina monofosfato.

Na Tabela 6 estão demonstrados estudos que verificaram o papel de diferentes suplementos nutricionais (carboidratos, glutamina, extratos de frutas e

bebidas antioxidantes), na modulação positiva de marcadores de estresse oxidativo, muscular e inflamatórios.

**Tabela 6** Papel da suplementação no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo em diferentes intensidades de exercício.

Referência	Sujeitos	Atividade	Suplemento	Resultados
Vassilakopoulos <i>et al.</i> (2005). <i>J Applied Physiol</i>	6 ♂ não treinados.	Intensa, Cicloergômetro	Vit A, E, C, N-acetilcisteína	↓CK, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$
McAnulty <i>et al.</i> <i>J Nutr Biochem</i> (2005)	38 ♂ triatletas	Exaustiva	Vit E	↑ hidroperóxidos e Hcy
Morillas-Ruiz <i>et al.</i> (2006) <i>Clinical Nutr</i>	31 ♂ atletas	Exaustiva, cicloergômetro	Bebida c 2,3 g polifenóis	↓CK, TBARs
Carvalho-Peixoto, Alves e Cameron (2007). <i>Applied Physiol Nutr Metabol</i>	15 ♂ atletas	Corrida campo Intense	CHO, Gln	↓ NH $_3$
Bassini-Cameron <i>et al.</i> (2008). <i>Br J sports Med</i>	18 ♂ atletas	Corrida em campo/esteira	Gln	↓ NH $_3$ , injúria muscular
Cholewa <i>et al.</i> (2008) <i>Sci Sports</i>	21 ♂ atletas	Basquete	Vit C	↑GPx, MDA, urato, SOD, catalase
Jensen <i>et al.</i> (2008) <i>J Agric Food Chem</i>	12 ♂ voluntários	Sem treinamento	Açaí Monavie®	↑ Cap Antiox no plasma
Panza <i>et al.</i> (2008) <i>J Nutr</i>	14 ♂ atletas	Força máxima	Chá verde	↓FRAP, Xantina oxidase, MDA
Jin <i>et al.</i> (2010) <i>Eur J Clin Nutr</i>	1002 ♂♀	Sem treinamento	Quercetina 12 sem	↑ Quercetina no plasma e ↓estresse oxidativo
Muñoz <i>et al.</i> (2010) <i>Toxicology</i>	400 ♂ idosos	Sedentários	Bebida funciona®	↑ capacidade antioxidante
McAnulty <i>et al.</i> (2013) <i>Appl Physiol Nutr Metabol</i>	14 ♂ atletas	Exaustiva	Quercetina+ Resveratrol	↓ MDA

Hcy: homocisteína; CK: creatinoquinase total, TNF $\alpha$ -Fator de necrose tumoral alfa, IL-6/1 $\beta$ -interleucinas 6 e 1 $\beta$ , TBARs: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; NH $_3$ -Amônia, SOD- superóxido dismutase, FRAP- redução de íons férricos, MDA-Malondialdeído. CAp Antiox-capacidade antioxidante;

Ficou demonstrado na Tabela 6, que o consumo de suplementos de carboidratos e glutamina foi eficiente no controle da amonemia e de marcadores de injúria muscular e hepática. Em adição, os estudos com chá verde, quercetina+resveratrol, bebidas antioxidantes (Funciona®, Monavie®, polifenóis), mistura de vitaminas (A, E, C) e N-acetilcisteína, também foram eficientes na modulação do estresse oxidativo e inflamatório, porém, as vitaminas C e E, quando

usadas isoladamente agiram como pró-oxidantes e não foram suplementos positivos no controle de marcadores de estresse oxidativo.

Panza *et al.* (2008) demonstraram que o consumo de chá verde em indivíduos treinados que realizaram atividade de força em alta intensidade melhorou o rendimento físico dos voluntários testados. O chá verde foi positivo no controle do estresse oxidativo e muscular verificado pelo método FRAP, na diminuição da oxidação de íons férricos e pela análise da redução da atividade da xantina oxidase e creatinoquinase total (CK).

Rosseau *et al.* (2006) reportaram positivamente o papel dos carotenoides no controle de marcadores de peroxidação lipídica e de dano proteico em indivíduos treinados submetidos a treino exaustivo. Adicionalmente, McAnulty *et al.* (2011) verificaram que o consumo de uma mistura de flavonoides (quercetina) com vitamina C e ômega 3 foi mais efetivo na melhora da capacidade antioxidante do plasma, antes e depois de atividade intensa em cicloergômetro, quando comparado a bebida controle. Contudo, em estudo anterior de McAnulty *et al.* (2005), não ficou demonstrado o benefício do consumo de suplementação com altas doses de alfa tocoferol (800 UI-vitamina E), na modulação positiva do estresse oxidativo entre atletas de elite que realizaram exercício exaustivo. Em adição, os autores verificaram que a suplementação agiu como pró-oxidante.

MUÑOZ *et al.* (2010) demonstraram a eficácia de um suplemento com vitaminas e suco de fruta (Funciona®) no controle do estresse oxidativo em idosos saudáveis, treinados e não treinados, comparando seu papel antioxidante com o exercício regular e moderado, que está associado à modulação do estresse oxidativo. Os autores verificaram que o suco foi mais eficiente que a atividade física no controle do estresse oxidativo no grupo estudado. Adicionalmente, o uso de N-acetilcisteína, metabólito da glutathione, considerado um peptídeo antioxidante, melhorou o desempenho de indivíduos treinados em atividades submáximas de longa duração, porém, não retardou a fadiga em atividades próximas à intensidade máxima (MEDVED *et al.*, 2004). Por outro lado, ficou demonstrado que o uso de vitamina C e E não foi eficiente no controle do estresse oxidativo e na melhora do desempenho em atletas voluntários submetidos a atividades de endurance (GAEINI *et al.*, 2006; CHOLEWA *et al.*, 2008), quando comparado ao uso de quercetina em atletas (NIEMAN *et al.*, 2010) e com a formulação preliminar do suplemento

energético à base de açaí liofilizado testado por nosso Laboratório (CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2010).

## 2.10 ESTRESSE OXIDATIVO, EXERCÍCIO E INFLAMAÇÃO

Inflamação é uma resposta biológica complexa de vasos e tecidos a um estímulo indutor de injúria tais como patógenos, irritantes, alérgenos e danos celulares induzidos por traumas, doenças e atividades extenuantes (RATHEE *et al.*, 2009; McANULTY *et al.*, 2013). A regulação da produção de citocinas no músculo esquelético é influenciada por vários fatores, como a depleção de glicogênio e o aumento de íons  $\text{Ca}^{+2}$  (McANULTY *et al.*, 2005). Durante o exercício, células imunológicas são mobilizadas e ativadas em resposta ao dano muscular, com ações coordenadas de hormônios de estresse, como cortisol, catecolaminas e hormônio de crescimento liberados em função do aumento da demanda metabólica e da temperatura central. Esse aumento da temperatura corporal pode promover vazamento de endotoxinas da parede intestinal (lipopolissacarídeos) para a circulação e estresse oxidativo por ação de substâncias pirogênicas que ativam monócitos, via mediadores inflamatórios (PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007; RATHEE *et al.*, 2009).

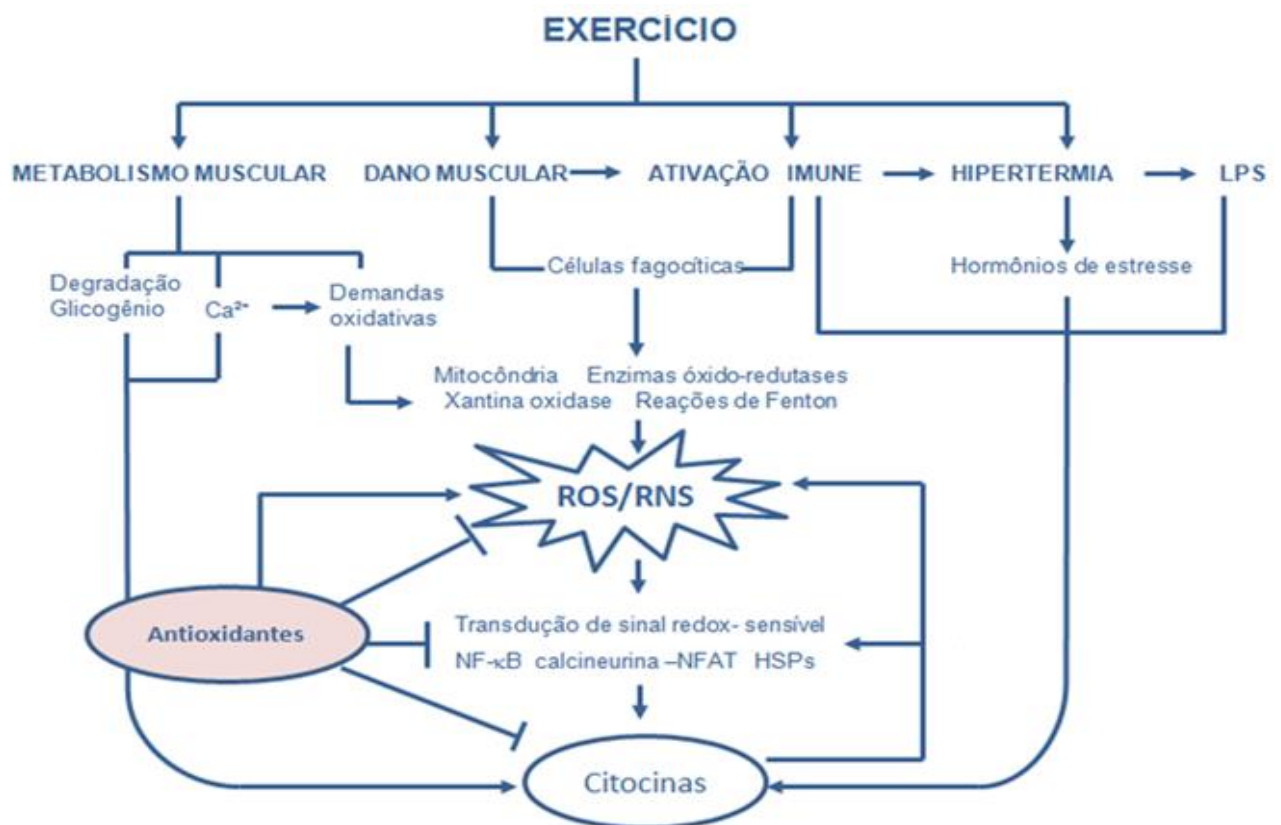
O estresse oxidativo pode afetar a produção de citocinas devido ao aumento dos RONS ativar passos de transdução de sinal redox-sensível, como os fatores de transcrição nuclear  $\kappa$ -B, de células T ativadas por calcineurina (NFAT) e proteínas de choque térmico (HSPs) (VASSILAKOPOULOS; ROUSSOS; ZAKYNTHINOS, 2005).

Durante o exercício, enzimas antioxidantes endógenas e suplementos antioxidantes dietéticos podem atenuar a produção de citocinas por neutralização direta dos RONS ou por inibição dos passos de transdução de sinal redox- sensíveis (PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007).

McAnulty *et al.* (2011) mostraram que o consumo diário de mirtilos por 6 semanas entre atletas que realizaram teste de corrida a 72% do  $\text{VO}_{2\text{máx}}$  reduziu o estresse oxidativo pelo aumento de citocinas anti-inflamatórias e na contagem de células *natural killers*.

Na Figura 16 estão representadas as interações entre exercício, RONS antioxidantes e citocinas segundo Peake; Suzuki; Coombes (2007). O exercício ativa passos de sinalização do NF $\kappa$ -B no músculo, com ativação de linfócitos, mediada em

parte pela formação de RONS (MAZIERE *et al.*, 2005). Esta condição induz aumento da reposta inflamatória e de citocinas, como as interleucinas 1 e 6 (IL1 $\beta$ , IL6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). Esta ativação do NF $\kappa$ -B pode ser inibida pelo consumo de antioxidantes que apresentam habilidade em modular a produção de citocinas no músculo, como demonstrado em estudos anteriores (KOSMIDOU *et al.*, 2002; KHASSAF *et al.*, 2003).



**Figura 16** Esquema das interações entre exercício, RONS, antioxidantes, citocinas e lipopolissacarídeos. LPS-lipopolissacarídeos; NF- $\kappa$ B: fator de transcrição nuclear  $\kappa$ -B; HSPs-Proteínas de choque térmico; calcineurina NFAT-fator nuclear de células T ativadas por calcineurina. Adaptado de PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007.

Estímulos para a produção de citocinas podem ser também desencadeados pelo passo de sinalização redox-sensível via calcineurina-NFAT (OLSON e WILLIAMS, 2000). A calcineurina é uma proteína fosfatase regulada por cálcio, altamente concentrada no músculo esquelético, que pode sofrer defosforilação e ativar a localização nuclear de componentes citosólicos do NFAT. Este fator de transcrição regula a expressão de genes envolvidos com a resposta imune e exerce



importante papel na síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL1, IL6, TNF  $\alpha$  e NFkB) (PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007). Proteínas de choque térmico (HSPs) são liberadas em resposta ao calor e ao estresse oxidativo induzido pelo exercício e podem afetar a imunidade, porém, foi postulado que os antioxidantes podem atenuar a indução das HSPs em células imunológicas expostas ao calor durante o exercício (KHASSAF *et al.*, 2003).

Estudos com carboidratos, mistura de vitaminas A, C e E em atividades submáximas, com indivíduos treinados e não treinados, demonstraram efeitos positivos no controle de marcadores inflamatórios, pela modulação da IL6, cortisol, TNF  $\alpha$  e IL1 $\beta$  (VASSILAKOPOULOS; ROUSSOS; ZAKYNTHINOS, 2005).

## 2.11 ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA RESPIRATÓRIO

Os radicais livres, além de oxidantes, tem sido considerados como importantes moléculas de sinalização, atuando como mediadores e segundos mensageiros em diversas reações celulares (JACKSON, 2008). Esta condição tem sido associada a sistemas sensíveis ao oxigênio, tais como células quimiorreceptoras do corpo carotídeo, células musculares lisas das artérias pulmonares e produtoras de eritropoietina (GONZALEZ *et al.*, 2007). Estas células cumprem um papel essencial na homeostasia dos níveis de oxigênio em situações de hipóxia e dos níveis sanguíneos de O<sub>2</sub> arterial (GONZALEZ *et al.*, 2002). O aumento da ventilação aumenta o custo metabólico total da atividade a ser realizada e ocasiona maior competição pelo fluxo sanguíneo entre o sistema respiratório e músculos motores, o que pode resultar em diminuição do desempenho por mecanismos vasoconstrictores (WELLS; NORRIS, 2009).

Há uma estreita associação entre a produção de íons de H<sup>+</sup> via ácido láctico e o aumento dos níveis de amônia plasmática com o sistema respiratório, o que podem impactar na capacidade tampão, induzindo acidose tecidual e fadiga muscular (WELLS; NORRIS, 2009). A hipóxia pode aumentar os níveis de radicais livres que ocasionam inibição dos canais de K<sup>+</sup>, despolarização e aumento da atividade celular (GONZALEZ *et al.*, 2002).

O tecido muscular e o sangue são capazes de estocar e transportar o CO<sub>2</sub> produzido, através do metabolismo do H<sup>+</sup> (íon hidrogênio). O íon se combina com HCO<sub>3</sub> (íon bicarbonato) gerando H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (ácido carbônico), o qual se dissocia em

CO<sub>2</sub> (gás carbônico) e água. Se o CO<sub>2</sub> é removido pelo aumento da ventilação no pulmão, a equação pode mudar e mais hidrogênio pode ser aceito e, desta forma, tamponar o pH no sangue (ZAKYNTHINOS *et al.*, 2007).

Alguns pesquisadores evidenciaram que os efeitos do estresse oxidativo e dos ROS podem afetar o controle ventilatório, alterando mecanismos dos quimiorreceptores centrais e de muitos elementos do sistema de controle respiratório, incluindo sistemas não respiratórios que modulam os quimio reflexos, o que levaria à fadiga muscular respiratória (DANSON; PATERSON, 2006; ZAKYNTHINOS *et al.*, 2007).

Neste sentido, sabe-se que atividades de alta intensidade (ou seja, acima do limiar anaeróbio ou em intensidade próxima à máxima) são caracterizadas por acúmulo de CO<sub>2</sub> e íons de hidrogênio no músculo, o que leva à ativação da resposta ventilatória, via metaborreceptores, resultando em aumento do VO<sub>2</sub>, VCO<sub>2</sub> e V<sub>E</sub>, na tentativa do organismo em fornecer a quantidade necessária de O<sub>2</sub> para o trabalho mecânico a ser realizado (WASSERMAN *et al.*, 1973; DAVIS, 1985). Com o aumento da demanda metabólica e respiratória, há estimulação da produção de CO<sub>2</sub> pelos quimiorreceptores, que sinalizam o centro respiratório medular para o aumento da resposta do músculo cardíaco durante o exercício (MITCHELL *et al.*, 1985).

Nybo e Rasmussen (2007) reportaram que em exercícios com intensidades acima do limiar ventilatório e com indivíduos em hipertermia poderia haver redução da perfusão cerebral em 20 a 30%, o que influenciaria a função de neurônios e diminuiria a ativação motora. Os autores mostraram que a hiperventilação durante o exercício extenuante poderia causar redução na tensão de dióxido de carbono arterial que, se pronunciada, prejudicaria o aumento no fluxo sanguíneo cerebral, induzindo falha na perfusão e redução na captação de oxigênio pelo cérebro. Tal fato poderia contribuir para o surgimento precoce da fadiga e no prejuízo da captação de oxigênio pelo cérebro, o que estaria também associado à redução significativa da tensão de oxigênio mitocondrial (PO<sub>2mitoc</sub>).

Nesse sentido, o uso de suplementos nutricionais ou uma dieta rica em nutrientes antioxidantes, poderia contribuir para a melhora do controle respiratório, para a redução da injúria muscular e do estresse oxidativo, o que auxiliaria no aumento do desempenho em atividades de alta intensidade, como demonstrado em estudos metabólicos anteriores com indivíduos treinados e voluntários saudáveis

(Tabela 6) (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; ZAKYNTHINOS *et al.*, 2007; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008; McANULTY, 2011; 2013).

## 2.12 ESTRESSE MUSCULAR: PAPEL DOS CARBOIDRATOS E GLUTAMINA

Atividades de alta intensidade podem induzir mudanças metabólicas e imunológicas que resultam em estímulo para o estresse muscular e aumento da formação de radicais livres (BESSA *et al.*, 2008; JACKSON, 2008). As alterações metabólicas podem ser analisadas através de parâmetros hematológicos e bioquímicos, que se tornam instrumentos importantes para o entendimento das consequências do estresse físico e metabólico em atletas (BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007). Vários marcadores de estresse muscular podem ser utilizados para análises metabólicas em indivíduos treinados e serem indicativos de injúria e inflamação (PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007).

Entre os marcadores de estresse muscular e hepático podem ser citados a amônia, ureia, urato, creatinina e enzimas de função hepática (aspartato, alanina e gamaglutamil aminotransferases (AST, ALT,  $\gamma$ GT), fosfatase alcalina (AP) e de estresse muscular (creatinoquinase total-CK, lactato desidrogenase-LDH). Estes marcadores são indicativos de injúria hepática e muscular, em situações de estresse metabólico, como as que ocorrem em atividades extenuantes ou doenças, porém, a amônia plasmática é considerada um indicador de grande importância para atletas, pela influência na função cognitiva e motora (NYBO *et al.*, 2005; GONÇALVES *et al.*, 2012).

Metabólitos nitrogenados e a atividade de enzimas hepáticas podem estar elevados em atividades de alta intensidade pelo aumento da demanda energética, da atividade do ciclo das purinas e da desaminação de aminoácidos pelo músculo, em resposta ao exercício (BESSA *et al.*, 2008; PRADO *et al.*, 2011). A elevação da amonemia pode ocorrer pela atividade aumentada da mioquinase e da desaminação de aminoácidos, o que pode induzir fadiga central e periférica, pelo aumento da acidose tecidual no músculo e sistema nervoso central (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; NYBO *et al.*, 2005; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007).

A hiperamonemia transitória que ocorre em atividades de alta intensidade pode reduzir a capacidade de regeneração de ATP, já que a amônia ativa receptores NMDA (N-metil D-aspartato), que parecem influenciar a função mitocondrial,

contribuindo para a diminuição na síntese de ATP e para o surgimento da fadiga (NYBO *et al.*, 2005; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007). Adicionalmente, a amônia plasmática contribui para o aumento do  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial estimulando a formação de radicais livres, o que pode afetar a função de diferentes enzimas e da cadeia respiratória (MONFORT *et al.*, 2002).

Outro mecanismo proposto para a produção direta de amônia inclui a atividade da AMP desaminase e da glutamato desidrogenase (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007). A depleção de adenina nucleotídeos (AMP+ADP+ATP) também é responsável pela produção de amônia via AMP deaminase, quando o IMP não é reaminado de volta a AMP, como ocorre em atividades de curta duração e alta intensidade (PRADO *et al.*, 2011).

#### a) Carboidratos

A utilização de suplementos de carboidratos e aminoácidos tem sido recomendada para proteger atletas da hiperamonemia transitória, do aumento de marcadores de injúria muscular e de inflamação (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008). Vários trabalhos demonstraram que a ingestão de carboidratos durante atividades intensas, pode melhorar a glutaminemia, reduzir a injúria muscular e a fadiga; por conseguinte, aumentar o tempo de exaustão e a tolerância ao exercício (JEKEUNDRUP 2004; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012).

Em atividades de curta duração, os carboidratos podem exercer efeitos ergogênicos na melhora do desempenho, pelo aumento da produção de força muscular e redução da degradação proteica, principalmente se associados ao consumo de aminoácidos (IVY *et al.*, 2003; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012). Os mecanismos prováveis para a melhora do desempenho com o consumo de carboidratos podem estar associados a efeitos centrais, prevenção da hipoglicemia e pela alta taxa de oxidação do nutriente por minuto (1 g/min), que é mantida mesmo com alta ingestão do nutriente (JEKEUNDRUP, 2004; McANULTY *et al.*, 2007).

Estudos anteriores reportaram que a melhora do desempenho com o consumo de soluções de carboidratos, estava associada à ingestão de 30 a 50 g de carboidratos por hora, se comparado à ingestão de água e dietas com baixa

concentração de carboidratos (ANGUS; FEBRAIO; HARGREAVES, 2002; JEKEUNDRUP, 2004; LANGFORT *et al.*, 2004).

McAnulty *et al.* (2007) investigaram em ciclistas os efeitos dos carboidratos nas mudanças hormonais e no estresse oxidativo em resposta a exercício intenso, mostrando que o uso de 6% de uma solução de CHOs, quando comparado a uma solução placebo, foi eficiente em controlar o estresse oxidativo e as concentrações de cortisol. Contudo, a ingestão crônica insuficiente de carboidratos pode reduzir os estoques de glicogênio, aumentar a amonemia, contribuir para o surgimento da fadiga, lesões e diminuir o rendimento físico (SCHULZ; HERMANN, 2003; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012).

Como citado, soluções de carboidratos podem contribuir para a melhora do desempenho e tolerância ao exercício, pela manutenção da glicemia, aumento dos estoques de glicogênio e redução do estresse oxidativo, o que pode melhorar a função cognitiva e motora em repouso e durante atividades intensas e prolongadas (JEKEUNDRUP, 2004; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012).

Currell e Jekeundrup (2008) demonstraram que a taxa de oxidação de carboidratos em atletas pode atingir valores de até 105 g/h, principalmente, quando vários carboidratos são ingeridos conjuntamente, como por exemplo, glicose e frutose sugerindo que seu consumo em atividades de curta duração e alta intensidade pode melhorar o desempenho.

#### b) *Glutamina*

A glutamina é o aminoácido não essencial mais abundante no meio extracelular e que corresponde a 50% do *pool* de aminoácidos livres (CARVALHO-PEIXOTO, 2005). É metabolizada via ação da glutaminase a glutamato, seu produto metabólico imediato e centro da carga proteica diária. O glutamato pode ser transaminado a seu alfacetoácido, alfacetoglutaramato, que é hidrolisado a alfacetoglutarato e amônia (OLDE-DAMINK *et al.*, 2002).

A glutamina pode interferir com a produção de óxido nítrico, funcionando como transportadora não tóxica de amônia, porém, concentrações elevadas no sistema nervoso central podem formar metabólitos neurotóxicos (MONFORT *et al.*, 2002). O aminoácido é substrato energético para a gliconeogênese, contribuindo em 25% na produção de glicose e na síntese de glicogênio e da glutathione, um

tripeptídeo antioxidante e imunomodulador (CARVALHO-PEIXOTO, 2005). Portanto, a glutamina exerce importantes funções metabólicas e pode influenciar positivamente o metabolismo de atletas.

Alguns trabalhos verificaram com o uso de glutamina a melhora da imunidade, da carga energética e do estado redox celular (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; CRUZAT; TIRAPEGUI, 2009).

### 3 JUSTIFICATIVA

Alimentos funcionais e seus compostos bioativos ou nutracêuticos, como nutrientes isolados, alimentos processados e suplementos dietéticos, podem auxiliar no controle do estresse oxidativo induzido por atividades extenuantes e doenças (ERBA *et al.*, 2005; MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; MUÑOZ *et al.*, 2010).

Treinamentos intensos podem induzir estresse muscular e oxidativo acarretando em nível sistêmico, aumento do catabolismo muscular e de espécies reativas de oxigênio, que ocasionam mudanças no *status* redox e contribuem significativamente para a redução da força muscular e surgimento da fadiga (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BESSA *et al.*, 2008; POWERS *et al.*, 2011). Em contrapartida, o exercício físico pode favorecer a atividade do sistema de defesa antioxidante, já que o treinamento regular e moderado está associado à modulação da produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio no músculo, em função das adaptações metabólicas decorrentes do exercício (BLOOMER *et al.*, 2006). Contudo, estudos demonstram que a sobrecarga de treinamento aumenta a produção de radicais livres e, que a utilização de suplementos nutricionais enriquecidos com nutrientes antioxidantes pode auxiliar atletas na modulação do estresse muscular e do dano oxidativo em resposta ao exercício de alta intensidade (MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; GOLDFARB *et al.*, 2007; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; JENSEN *et al.*, 2008). Muitos atletas e praticantes de atividades físicas relatam dúvidas quanto à utilização de suplementos nutricionais e ao que efetivamente adquirir com segurança para consumir em treinamentos e competições extenuantes. Portanto, a compra de suplementos diferenciados torna-se uma estratégia interessante para este grupo de consumidores.

A Portaria 18/2010 estabelece a classificação e a composição dos suplementos destinados aos atletas (BRASIL, 2010). Entre os mais consumidos por

esse público e com bom grau de recomendação e nível de evidência estão as bebidas hidratantes e energéticas que, atualmente, podem ser enriquecidas com nutrientes antioxidantes e aminoácidos. Como citado, suplementos e alimentos funcionais parecem ser boas estratégias no controle do estresse oxidativo e muscular, porém a comprovação dos benefícios no organismo deve ser realizada por meio de estudos clínicos, através de análises de indicadores metabólicos e bioquímicos, a fim de avaliar a atenuação de marcadores de estresse oxidativo, muscular e hepático induzidos por esforços intensos. Resultados positivos oriundos destas estratégias podem garantir a recomendação do suplemento, o que poderá contribuir para a melhora do desempenho físico e saúde.

Face ao exposto, deve ser recomendada para atletas dieta rica em frutas e vegetais antioxidantes, principalmente em casos de baixa ingestão dessas fontes alimentares. Ademais, suplementos funcionais devem ser recomendados caso haja necessidade de complementação na dieta usual. A adequação dietética com alimentos e suplementos funcionais para atletas pode auxiliar no controle do estresse oxidativo e da injúria muscular e hepática induzidos por atividades intensas.

O desenvolvimento do projeto representou, portanto, a possibilidade de se agregar valor comercial, nutritivo e nutracêutico à bebida energética. Adicionalmente, proporcionou opção de comercialização de um suplemento energético para atletas diferenciado, a base de açaí, um fruto de grande apelo comercial e extensamente estudado por sua atividade antioxidante e efeito terapêutico em diversas condições clínicas e metabólicas.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Geral

Desenvolver bebida energética à base de açaí liofilizado para atletas e verificar, com o consumo do suplemento, a redução em marcadores de estresse muscular, oxidativo e na atenuação de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção de esforço pelo aumento da tolerância ao exercício e aumento no tempo de exaustão.

## 4.2 Específicos

1. Avaliar a composição nutricional e a qualidade microbiológica de polpas comerciais de açaí, a fim de determinar a de melhor qualidade para a liofilização;
2. Avaliar a composição nutricional, conteúdo de polifenóis totais, antocianinas totais e atividade antioxidante do açaí liofilizado e das bebidas formuladas;
3. Determinar a atividade antioxidante das bebidas formuladas, a partir de planejamento experimental, para selecionar aquela de melhor atividade antioxidante;
4. Verificar a aceitação, a qualidade microbiológica, o conteúdo nutricional, polifenóis totais, antocianinas totais e atividade antioxidante na bebida selecionada;
5. Analisar o perfil antropométrico, dietético e de aptidão cardiorrespiratória dos voluntários para os ensaios clínicos piloto e controlado;
6. Avaliar o papel do protocolo de exercício de alta intensidade como indutor de estresse muscular e oxidativo, através do aumento de marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo;
7. Avaliar a resposta fisiológica dos atletas com o consumo da bebida na atenuação de parâmetros cardiorrespiratórios, após o protocolo de exercício a 90% do  $VO_{2máx}$ ;
8. Verificar a eficiência da bebida na redução de marcadores de estresse muscular e oxidativo;
9. Avaliar com o consumo da bebida, a melhora da percepção do esforço e do tempo de exaustão pelo aumento da tolerância ao exercício;
10. Caracterizar a bebida como funcional a partir da modulação positiva dos parâmetros bioquímicos, fisiológicos e psicológicos associados à fadiga que foram estudados.

## 4 HIPÓTESE

A bebida energética à base de açaí tem potencial para modular marcadores de estresse muscular e oxidativo, melhorar a tolerância ao esforço e aumentar o tempo de exaustão em resposta ao exercício de alta intensidade.



## **6 METODOLOGIA**

### **6.1 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

O planejamento de experimentos foi elaborado com o intuito de se obter uma bebida energética funcional para atletas, a partir de concentração pré-definida dos principais componentes do suplemento e sua atividade antioxidante, avaliada pelo método ORAC, a partir da concentração mínima e máxima de açaí liofilizado (ingrediente principal da bebida). Para se chegar aos constituintes finais da bebida, foram testadas inicialmente 20 formulações até se definir os valores mínimos e máximos dos ingredientes que atendessem minimamente às características sensoriais desejadas na bebida como sabor, cor e aroma adequados e boa atividade antioxidante. A partir desses critérios, a bebida foi selecionada mediante planejamento fatorial fracionário e teve a atividade antioxidante como variável dependente, que foi quantificada em unidades de equivalentes de Trolox e ácido gálico pelo método ORAC. As características sensoriais ideais na bebida foram avaliadas por teste de aceitação entre provadores não treinados e potenciais consumidores, utilizando escala hedônica de nove pontos.

#### **6.1.1 Metodologia de superfície de resposta**

Para a análise da influência das variáveis independentes (ingredientes da bebida), sobre a variável de resposta (atividade antioxidante) foi delineado o planejamento experimental com metodologia de superfície de resposta, onde planos de ordem mais elevadas podem ser considerados ideais. A superfície de resposta foi determinada por gráficos tridimensionais, a partir dos fatores estatisticamente importantes no planejamento (MONTGOMERY; RUNGER, 2003; CALADO; MONTGOMERY, 2003).

#### **6.1.2 Planejamento estatístico da mistura**

A elaboração das bebidas através do planejamento fatorial fracionário objetivou reduzir à metade o número de experimentos. Foram selecionados quatro componentes para as bebidas, totalizando oito ensaios (oito bebidas codificadas de B1 a B8). Os componentes da bebida foram considerados variáveis independentes do planejamento. A interação desses fatores com a variável dependente ou de resposta (atividade antioxidante) foi analisada estatisticamente para a seleção da

bebida de maior atividade antioxidante, entre as formulações elaboradas. Para o planejamento delineado com dois níveis e quatro fatores ( $2^{4-1}$ ) foi utilizado o programa *Statistica 8.0* da *StatSoft* (Brasil) e estabelecido um nível de significância para os resultados de 95% ( $p < 0,05$ ).

## 6.2 PATENTE

Com o objetivo de garantir o sigilo das informações sobre o desenvolvimento da bebida e manter a exclusividade da formulação e seus ingredientes, foi elaborado um relatório descritivo de patente de invenção intitulado: “**SUPLEMENTO ENERGÉTICO FUNCIONAL, PROCESSO DE PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÃO E SEUS USOS**”, cuja descrição final foi depositada junto ao Instituto Nacional de Patentes Industriais (INPI) em 28/04/2011 e recebeu o número de protocolo de 020110042177. A patente contou com a participação dos inventores e com apoio técnico e científico da Agência de Inovação da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em todo o processo de elaboração da minuta da formulação selecionada.

## 6.3 METODOLOGIA ANALÍTICA

### 6.3.1 Amostras: análises físicas e químicas

Para as análises físicas e químicas, 12 amostras de polpas comerciais congeladas de açaí foram compradas no comércio de varejo do Rio de Janeiro (RJ). As amostras foram coletadas de maneira asséptica em embalagens de 100 g e 1000 g e transportadas ao Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico (LabCBroM), do Departamento de Produtos Naturais e Alimentos (DPNA), na Faculdade de Farmácia/Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), para descongelamento e posterior execução das análises. O objetivo dos procedimentos foi o de selecionar a polpa de melhor qualidade para liofilização. Estas análises foram efetuadas em triplicata, segundo metodologias oficiais.

### 6.3.2 Análises microbiológicas das amostras de açaí

As 12 marcas de polpas de açaí, o açaí liofilizado e as bebidas à base de açaí foram submetidas a análises microbiológicas, segundo padrões e critérios de qualidade microbiológicos para suco e polpa de açaí definidos por legislação (BRASIL, 2000; 2001; 2003; APHA, 2001). Foram realizadas análises quanto à

presença de coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e *Salmonella sp.* Para a pesquisa de *Salmonella sp* foram pesadas 25 g de cada amostra, após terem sido descongeladas e transferidas assepticamente para frascos contendo 225 mL de água peptonada estéril (diluição  $10^{-1}$ ). A partir desse procedimento, foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-3}$  com a mesma solução diluente. Foram também analisadas segundo a legislação, as contagens de coliformes fecais (método do número mais provável-NMP) e bolores e leveduras (método de profundidade) (BRASIL, 2003; AOAC, 2005).

### **6.3.3 Análise da composição nutricional das polpas de açaí, açaí liofilizado e da bebida energética a base de açaí**

#### **6.3.3.1 Composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos), perfil de aminoácidos, cafeína e ácidos graxos.**

As polpas de açaí foram analisadas quanto aos teores de umidade residual (extrato seco em mufla a 105 °C), segundo os métodos 012/IV e 429/IV (IAL, 2005). Para determinação das cinzas em MUFLA a 550°C nas amostras estudadas foi utilizado o método 018/IV (IAL, 2005). A determinação de nitrogênio total (gramas de nitrogênio/100 g) nas amostras foi baseada no método de *Kjeldahl* (IAL, 2005). A concentração de proteína bruta foi calculada pelo produto da quantidade de nitrogênio total (g) pelo fator de conversão 6,25 (IAL, 2005). Os teores de lipídios totais (g de lipídios/100 g de polpa de açaí liofilizada) foram determinados gravimetricamente, após extração com éter etílico em extrator de Soxhlet e recuperação do solvente (AOAC, 2000). A quantificação de carboidratos, incluindo as fibras foi calculada por diferença entre 100 e a soma dos teores de umidade, cinzas, lipídios totais e proteínas. Os resultados foram expressos em g/100 g.

Para análise do perfil de aminoácidos, liberados pela hidrólise e adição de diluente padronizado aos cristais de aminoácidos derivatizados foi usado o método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, utilizando eluição em gradiente linear binário e detecção no UV a 254 nm. As condições cromatográficas foram: fase móvel com gradientes e eluentes padronizados, fluxo 1,0 mL/min, coluna C18 250 X 4,6mm, 5 micron, forno 55 °C, comprimento de onda 254 nm (WHITE; HART; FRY, 1986; HAGEN; FROST; AUGUSTIN, 1989). Os ácidos graxos foram analisados por cromatografia em fase gasosa dos ésteres

metílicos de ácidos graxos através dos métodos 344/IV; 054/ IV; 055 /IV, 056/ IV (IAL, 2005).

A cafeína foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, com detecção no UV a 272-278 nm e quantificada por padrão externo. As condições cromatográficas foram: fase móvel: ácido fórmico 0,2%/metanol (70:30 v/v), fluxo 0,6 mL/min, coluna C18-150 x 4,6 mm, 5 micron, comprimento de onda: 272-278 nm (ISO 10095:1992E; MA-858/POP: PAI-22, CBO<sup>®</sup>análises).

#### 6.3.3.2 Vitaminas A, E, C e teores de minerais

Para determinação das vitaminas A e E foi usado método cromatográfico através de sistema isocrático com detector de fluorescência (CLAE), com leituras nos comprimentos de onda entre 325nm-480 nm, para vitamina A e 280 nm para Vitamina E. Para análise da vitamina C, foi usado método espectrofotométrico (366/IV) a partir da redução de íons cúpricos (AOAC, 2000; IAL, 2005). Este método é aplicável para a quantificação de ácido ascórbico (vitamina C) em baixas concentrações em alimentos pigmentados, naturais e industrializados.

Os minerais como ferro, cálcio e selênio foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (EAA) ou plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP). Este método baseia-se na extração, por calcinação e/ou digestão ácida do elemento mineral contido na amostra com a determinação da sua concentração por meio da técnica de absorção atômica (IAL, 2005), utilizando o equipamento ELAN 6000 (Perkin Elmer-Sciex). As análises foram efetuadas em parceria do Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico da Faculdade de Farmácia/UFRJ e o Laboratório de Análise de Alimentos, CBO Análises<sup>®</sup> (SP-Campinas/Brasil).

#### 6.3.3.3 Liofilização

A polpa selecionada foi removida da embalagem em condições assépticas e depositada em bandeja de aço inoxidável do Liofilizador de Bancada série LS da marca Terroni<sup>®</sup>, com condensador em aço inox AISI 304 e acabamento sanitário espelhado. O equipamento foi hermeticamente fechado para ser acionado o sistema de congelamento onde toda massa atingiu – 40 °C. Em seguida, o sistema de frio foi interrompido e o de vácuo foi acionado para que parte da água livre da polpa fosse

sublimada. O processamento foi realizado em triplicata e durou, em média, 12 horas. A liofilização de 50 quilogramas de polpa de açaí foi realizada em parceria com o Laboratório de Análise de Alimentos CBO Análises® (SP-Campinas/Brasil).

#### **6.3.4 Conteúdo de polifenóis e antocianinas totais, atividade antioxidante das amostras de açaí liofilizado e bebida energética à base de açaí**

Para as polpas de açaí liofilizadas selecionadas foram utilizados métodos para a quantificação de fenólicos totais e antocianinas totais monoméricas e de atividade antioxidante (DPPH e ORAC).

##### **6.3.4.1. Determinação de fenólicos totais**

Para a determinação do conteúdo de fenólicos totais foi utilizado o método espectrofotométrico utilizando o reagente de *Folin-Ciocalteu*, segundo procedimento de Singleton e Rossi (1965). O teor de fenólicos totais foi determinado nas amostras de açaí liofilizado selecionadas a partir das polpas de maior conteúdo em sólidos totais, como também nas oito bebidas formuladas.

Um (1) mL de cada bebida foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e seu volume ajustado com água destilada (1:100). Para o preparo do extrato aquoso das amostras de açaí liofilizado foi pesado aproximadamente um (1) grama de açaí liofilizado, que foi suspenso em 200 mL de um balão volumétrico (volume final ajustado com água destilada). Após este procedimento, as amostras foram colocadas em banho de gelo, até completa solubilização e homogeneização em ultrassom sendo após armazenadas em geladeira a aproximadamente 4 °C por pelo menos 12 horas. Após este período foram novamente colocadas em banho de ultrassom por 10 minutos e as soluções foram filtradas e os volumes ajustados para 250 mL.

Os extratos foram diluídos (1:10) para todas as amostras analisadas e os resultados comparados com a curva de calibração do ácido gálico, que foi preparada com diferentes concentrações da solução padrão (6,0; 4,8; 3,6; 2,4; 1,2; 0,3 µg/mL). A reação foi realizada utilizando 2,5 mL do reagente fenol a 10% (*Folin-Ciocalteu*), 0,5 mL do extrato aquoso e 2,0 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 7,5%. Para o branco, foi usado 0,5 mL de água destilada em substituição ao extrato. As amostras em triplicata foram mantidas em local escuro durante 2 horas antes das leituras das

absorbâncias a 760 nm em espectrofotômetro (UV mini 1240-UV-vis, Shimadzu®). Os resultados foram expressos em µg de equivalentes em ácido gálico (µg de EAG /mL).

#### 6.3.4.2 Antocianinas totais monoméricas

Para determinação da concentração de antocianinas totais (ACT) nas amostras de açaí liofilizado e na bebida selecionada foi utilizado o método de pH diferencial descrito por LEE; DURST; WROLSTAD (2005). As análises foram realizadas em triplicata e as ACT foram expressas como cianidina 3-glucosídeo (cid-glu) e expressas por mg.100<sup>-1</sup>mL do padrão. Foram utilizados como padrão uma solução tampão de cloreto de potássio a 0,025 M (pH 1,0) e 0,4 M de acetato de sódio (pH 4,5), segundo determinação do fabricante. Para o procedimento foi determinado o fator de diluição usando o Tampão KCl até que a absorbância das amostras diluídas a 25 e 50% atingisse a linearidade no λ máximo atingisse um comprimento de onda de 520 nm e 700 nm. As amostras foram mantidas em repouso por 15 minutos e a leitura no espectrofotômetro foi realizada no λ máximo e em 700 nm. As leituras ocorreram entre 15 min até uma hora após o preparo das amostras, para não ocorrer erros de leitura. As amostras não deveriam conter sedimentos, no entanto, alguns materiais coloidais poderiam estar suspensos e causarem difusão da luz e turbidez. Essa possibilidade de erro foi corrigida por leituras em λ onde nenhuma absorbância da amostra ocorresse (700 nm). As análises foram realizadas em parceria entre o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL/SP) e Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico (LabCBroM/FF/UFRJ). Para o cálculo da absorbância da amostra diluída (A) foi utilizada a equação:

$$A = (A_{\lambda\text{máx}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda\text{máx}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

e para o cálculo da concentração de antocianinas monoméricas:

$$\text{ATM (mg/L)} = (A \times \text{PM} \times \text{GD} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

sendo PM: Peso molecular da antocianina predominante na amostra; GD: Grau de diluição; ε: Absortividade molar.

#### 6.3.4.3 Atividade antioxidante: DPPH

O método do DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidrazil*) possibilita a medida da atividade sequestrante do radical DPPH e foi realizado de acordo com a metodologia descrita por RUFINO *et al.* (2007). O método provoca a redução do radical estável DPPH que ao fixar o H<sup>+</sup> (removido do antioxidante em estudo) leva a uma diminuição da absorvância. Uma alíquota de aproximadamente 3,9 mL de solução de DPPH (0,06088 mmol.L<sup>-1</sup>) foi adicionada a 0,1 mL do extrato aquoso das amostras de açaí liofilizado e bebidas. Para o branco, foi usado 0,1 mL de água destilada em substituição ao extrato. As amostras foram mantidas em local escuro durante 1 hora antes das leituras em triplicata das absorvâncias a 517 nm em espectrofotômetro (UV mini 1240-UV-vis, Shimadzu®). Os resultados foram expressos em capacidade percentual de sequestro do radical DPPH em equivalentes de ácido gálico e calculada segundo a equação 1 abaixo, com base no decréscimo da absorvância, observado em função do percentual de inibição de oxidação do radical:

$$AA \% = \frac{100 - [(Abs.cont - Abs.am) \times 100]}{Abs.contn}$$

Onde: [Abs.AM] = absorvância da solução da amostra;  
 [Abs.cont] = absorvância do controle;  
 [Abs.contn] = absorvância do controle negativo.

#### 6.3.4.4 Atividade antioxidante: ORAC-Fluoresceína

O método ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) baseia-se na medida da diminuição da concentração de substrato oxidável (fluoresceína) no decorrer do tempo de fluorescência, nas amostras em estudo (OU *et al.*, 2002; DÁVALOS, GOMEZ-CORDOVÉS e BEGÕNA, 2004). Para determinação da atividade antioxidante pelo método ORAC-fluoresceína, as amostras foram analisadas em triplicata. A determinação do valor relativo em unidades de ORAC se deu pela medida de perda da fluorescência das proteínas, com conseqüente perda da conformação por dano oxidativo, após o emprego do AAPH (2,2'-Azobis 2-amidinopropano), um gerador de radical livre de oxigênio. A atividade antioxidante, segundo o método ORAC no açaí liofilizado e bebidas, foi determinada pelo procedimento proposto por OU *et al.* (2002) e, posteriormente, adaptado por DÁVALOS; GOMEZ-CORDOVÉS; BEGÕNA (2004). O açaí liofilizado selecionado

(diluição 1:200) e as oito bebidas desenvolvidas com quatro componentes (diluição de 1:500) foram filtrados para retirada de alíquotas de 20 µL das amostras em triplicata. A reação foi realizada em tampão fosfato 75 mM (pH-7,4) à temperatura de 37 °C. O volume final analisado foi de 200 µL, cuja mistura final continha 120 µL de fluoresceína (70 nM), substrato oxidável, 60 µL de AAPH, substrato oxidante (10,8 mg/mL, 12 mM) e 20 µL de amostra ou tampão ou padrão adicionados em poços de microplacas de leitura (96 uds) de um espectrofluorímetro (FLUOstar Omega, BMG Labtech®). As amostras descansaram 15 minutos em banho-maria antes de se adicionar o AAPH, substrato oxidante, para posterior leitura da fluorescência (ξexcitação: 485 nm e ξemissão: 520 nm). As leituras foram realizadas a cada minuto, durante 80 minutos e para este processo ocorreram três corridas independentes para cada amostra. Foram utilizados como padrões ácido gálico (20µg.mL<sup>-1</sup>) e Trolox (100 nM) e como branco, solução tampão fosfato (pH= 7,4). A solução estoque de fluoresceína foi preparada duas semanas antes e estocada a 4 °C. As soluções de AAPH, ácido gálico e Trolox (em tampão fosfato a 75 mM) foram preparadas no dia. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e a perda da fluorescência das amostras, do ácido gálico e Trolox foi correlacionada ao controle, para se estabelecer a área sob a curva (AUC) entre as amostras e os padrões (ácido gálico e Trolox). As medidas das fluorescências foram normalizadas para a curva do branco e controle positivo (AAPH). A AUC foi calculada segundo a equação abaixo:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=80} f_i/f_0,$$

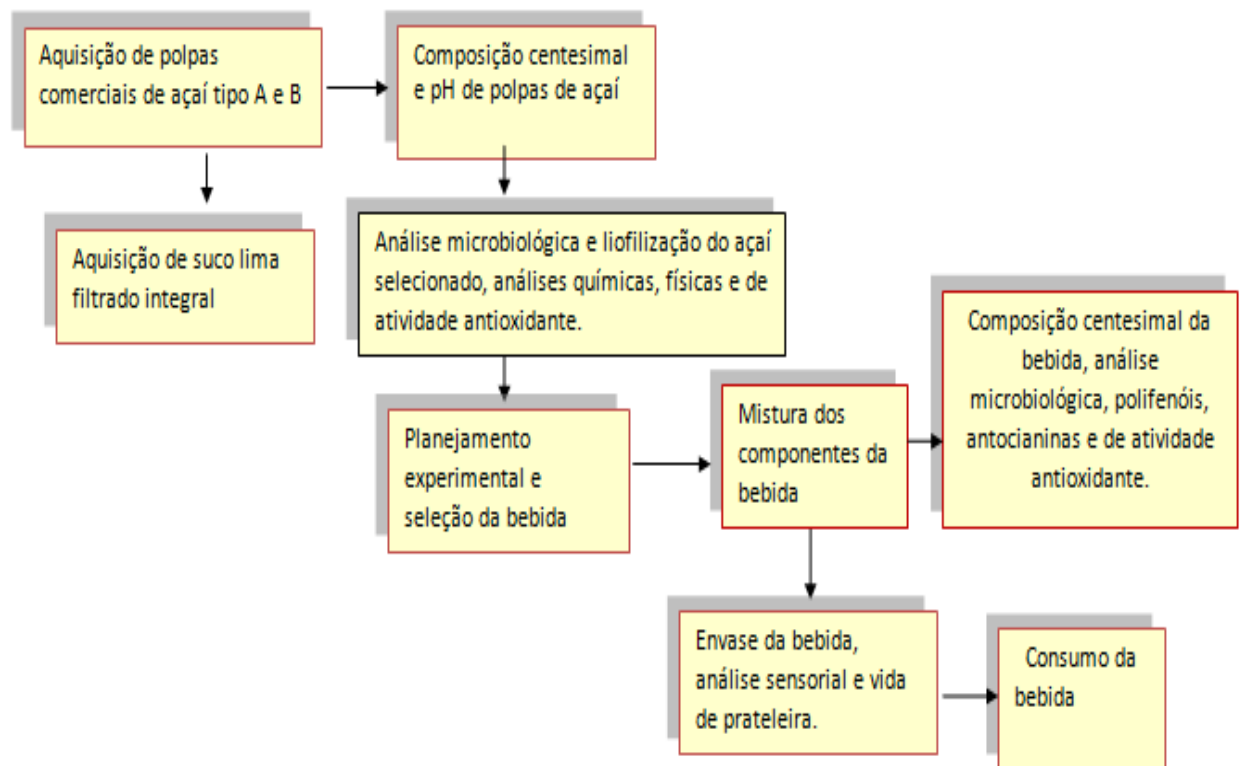
$f_0$  correspondeu ao início da leitura da fluorescência a zero minuto, e  $f_i$  à leitura da fluorescência em tempo  $i$ . As áreas das curvas líquidas correspondentes às amostras foram calculadas pela subtração da AUC do branco e calculadas equações de regressão entre AUC líquida e a concentração antioxidante, para todas as amostras. Os valores relativos do ORAC foram expressos como equivalentes de ácido gálico e Trolox, baseado na curva de calibração calculada para cada experimento. Os resultados foram expressos em valor ORAC relativo em equivalentes de ácido gálico (EAG em µg.mL<sup>-1</sup>) e equivalentes em Trolox (µg.mL<sup>-1</sup>). As análises foram realizadas em parceria com o Laboratório Instrumental de



Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade de Campinas/SP (FEA/UNICAMP).

#### 6.4 FLUXOGRAMA DE ELABORAÇÃO DA BEBIDA E ENVASE

A bebida elaborada foi acondicionada em garrafa plástica atóxica e/ou de vidro, estéril (300 mL) e fechadas com tampa de rosca. O produto foi mantido refrigerado com a finalidade de preservar a bebida (CIPOLA, 1986) para os testes ou congelada para as análises físicas e químicas. O fluxograma de elaboração da bebida está demonstrado na Figura 17.



**Figura 17** Fluxograma de elaboração da bebida à base de açaí

#### 6.5 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi programada e executada para determinar a preferência e a aceitabilidade da bebida por prováveis consumidores. Provedores não treinados que participaram do teste de aceitação preliminar realizaram a técnica de perfil livre para definir e quantificar atributos sensoriais na bebida (cor e sabor), através de escala hedônica semiestruturada de nove pontos. O teste é útil para detectar as

preferências relacionadas às características sensoriais que são desejadas pelo estudo como a cor, o sabor, doçura, acidez, a impressão global da bebida, bem como sua intenção de compra (CALEGUER; BENASSI, 2007).

Os resultados para os testes de aceitação foram tratados por análise descritiva (Teste 1) e de variância (Teste 2) utilizando o programa *Statistica* 8.0. O teste consistiu em selecionar provadores não treinados para avaliarem os atributos desejados na bebida formulada (impressão global: sabor, aroma, apresentação e doçura e acidez), bem como para a intenção de compra. No Teste 1, voluntários da Faculdade de Farmácia provaram diretamente a bebida após a sua elaboração (ano 2010) e em outro momento na Feira da FAPERJ/Rio de Janeiro, os participantes degustaram o produto (ano 2011).

A partir do primeiro teste de aceitação, foi selecionada a bebida entre os provadores segundo os resultados da escala hedônica de nove pontos, para dar sequência ao ensaio clínico piloto com os voluntários. Posteriormente, foi realizado o segundo teste de aceitação com voluntários velocistas de ambos os sexos para verificação da aceitação da bebida. O teste aconteceu em cabines individuais codificadas e iluminadas com luz natural, com as bebidas codificadas, a partir de técnica de seleção previamente determinada.

Os resultados obtidos da escala hedônica de nove pontos, que avalia as intensidades de gostar e desgostar foram comparados aos resultados de aceitação para produtos comercializados à base de açaí (suco de açaí comercial e bebida de maltodextrina sabor açaí para atletas). A partir dos resultados entre as bebidas testadas foi possível verificar a aceitação da segunda formulação da bebida à base de açaí liofilizado e sua intenção de compra pelos prováveis consumidores.

O instrumento utilizado para coleta das informações foram formulários que continham as intensidades de gostar ou desgostar baseada na escala hedônica de nove pontos. O Termo de Consentimento (Apêndice A) e os formulários preliminares de análise estão representados nas Figuras 18a e 18b (Apêndices B e C).

A Figura 18a contém o formulário utilizado no teste de aceitação, que estabelece o julgamento para os atributos cor e sabor em intensidades de gostar e desgostar (Teste de aceitação 1). Na Figura 18b está o formulário em que as mesmas intensidades são julgadas, porém, incluiu também a impressão global sobre a bebida e sua intenção de compra entre os voluntários (Teste de aceitação 2).

### Avaliação Sensorial do Produto

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 1) Após provar a amostra oferecida, faça um círculo no número que corresponde a sua preferência.
- 2) Avalie a amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou da bebida segundo atributos sabor e consistência (textura)

Sabor		Cor	
1	Desgostei muitíssimo	1	Desgostei muitíssimo
2	Desgostei muito	2	Desgostei muito
3	Desgostei regularmente	3	Desgostei regularmente
4	Desgostei ligeiramente	4	Desgostei ligeiramente
5	Indiferente	5	Indiferente
6	Gostei ligeiramente	6	Gostei ligeiramente
7	Gostei regularmente	7	Gostei regularmente
8	Gostei muito	8	Gostei muito
9	Gostei muitíssimo	9	Gostei muitíssimo

**Figura 18a** Formulário para teste de aceitação através de escala hedônica de nove pontos para os atributos sabor e cor

**Ficha de Avaliação Sensorial**    **Atleta Modalidade:** \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

- 1) Quanto você gostou ou desgostou de cada amostra? De modo geral, por favor, indique o quanto você gostou ou desgostou, utilizando a escala hedônica abaixo:

- 9 - Gostei extremamente (Adorei)  
 8 - Gostei muito  
 7 - Gostei moderadamente  
 6 - Gostei ligeiramente  
 5 - Nem gostei/Nem desgostei  
 4 - Desgostei ligeiramente  
 3 - Desgostei moderadamente  
 2 - Desgostei muito  
 1 - Desgostei extremamente (Detestei)

Amostra	Aparência	Cor	Sabor	Aroma	Acidez	Impressão Global
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

- 2- Com base em sua opinião sobre esta amostra de **BEBIDA**, indique na escala abaixo, sua atitude se você encontrasse esta amostra à venda. Se eu encontrasse esta Bebida à venda eu:

5. Certamente compraria  
 4. Possivelmente compraria  
 3. Talvez comprasse / talvez não comprasse  
 2. Possivelmente não compraria  
 1. Certamente não compraria

Amostra	Sim	Não
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )

Muito obrigada por sua colaboração!

**Figura 18b** Formulário para teste de aceitação através de escala hedônica de nove pontos Julgamento quanto à cor, sabor, impressão global e intenção de compra da bebida.

## 6.6 VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira foi realizada preliminarmente para avaliação inicial das características sensoriais e de pH da bebida selecionada, com e sem suco de lima ácida em temperatura de refrigeração. Foi também analisada a vida de prateleira pelo método de estabilidade oxidativa que foi medida com equipamento Oxipres-ML® e determinada por registro gráfico para avaliar a aceleração da oxidação da bebida sob pressão (5 bar, 80 psi) e alta temperatura (100 °C), fornecendo o período de indução (momento de queda marcante da pressão, que determina o tempo a partir do qual a oxidação na amostra se acelera), até o momento da queda total da curva. Esta análise permite que seja estimada a vida de prateleira do produto, a partir do tempo medido desde o começo da curva até o ponto de interseção entre as duas tangentes (DANISCO, 2007). Para a vida de prateleira e garantia da qualidade microbiológica da bebida, para o ensaio clínico foi realizada análise microbiológica sob condições de refrigeração durante 49 dias. As amostras foram analisadas em triplicata, em câmara climatizada à temperatura de refrigeração (6-10 °C). A análise microbiológica nas bebidas foi determinada utilizando metodologias oficiais (BRASIL, 2001; 2003; APHA, 2001).

## 6.7 ENSAIO CLÍNICO

Para o ensaio clínico, foram recrutados inicialmente 78 atletas (n=23 do sexo feminino e n=55 do sexo masculino). Para o cálculo amostral foi usado um n de 30 indivíduo, em virtude de desistências e dificuldade dos atletas em manter os testes, o que totalizou para o estudo um n=28 indivíduos. Portanto, para o ensaio (piloto e controlado), a amostra final total foi composta de 28 voluntários atletas do sexo masculino. Os critérios de exclusão para o estudo foram: a) uso de medicação para tratamento cardiovascular ou doença metabólica; b) serem fumantes e fazerem uso de bebidas alcoólicas ou de substâncias ergogênicas, que pudessem afetar o desempenho durante o exercício; e c) apresentar comprometimento cardiovascular, respiratório, ósseo ou articular e doença metabólica ou nutricional que pudesse limitar a função física e de saúde.

Todos os indivíduos entenderam os procedimentos do estudo e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice D), após a aprovação concedida em 04/11/2010 pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital

Universitário Clementino Fraga Filho (CEP/UFRJ, Memorando nº 862/10, Protocolo 112/10 de 18/11/2010, Anexo B) (BRASIL, 1996; BRASIL, 2012).

O objetivo do ensaio piloto (50% da amostra, n=14) foi avaliar o potencial da bebida energética à base de açaí no controle da amonemia, injúria muscular e do estresse oxidativo induzido por corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$ . No ensaio controlado (n=14, 50% da amostra), a eficácia da bebida a base de açaí (AED) foi analisada para se verificar a atenuação nas respostas cardiorrespiratórias, de percepção de esforço e na redução de marcadores de estresse muscular e oxidativo, antes e após um teste incremental em rampa, com cargas contínuas a 90% do  $VO_{2máx}$ . No estudo controlado a principal hipótese era a possibilidade da AED melhorar a tolerância ao esforço e, por conseguinte, o tempo de exaustão durante o exercício de alta intensidade e no controle dos marcadores de estresse oxidativo e muscular. No estudo clínico, os indivíduos foram aleatoriamente divididos para o ensaio piloto (n=14) e controlado (n=14). Os critérios de inclusão dos atletas para os estudos foram: não serem usuários de drogas, não consumirem suplementos nutricionais, fármacos, esteroides anabolizantes, antes dos testes, e serem isentos de doenças metabólicas, inflamatórias e/ou infecciosas (Apêndice E). A faixa etária do grupo adulto variou de 19 a 49 anos. Os indivíduos deveriam estar em fase pré-competitiva e/ou competitiva de treinamento, serem atletas há pelo menos dois anos e realizarem treinamento regular e ininterrupto, com frequência semanal de treinos, mínima, de cinco vezes. Para os ensaios clínicos foram realizadas análises antropométrica, dietética, de aptidão cardiorrespiratória, hematológicas, bioquímicas e de percepção do esforço.

#### **6.7.1 Avaliação antropométrica: características morfológicas dos atletas**

As medidas antropométricas obedeceram às normas sugeridas pela *International Society for Advancement of Kinanthropometry* (NORTON; OLDS, 2005). Para medida da massa corporal, foi utilizada balança digital modelo PL 180, das Indústrias Filizola S/A (São Paulo, Brasil). A tomada da estatura foi obtida por um estadiômetro graduado em milímetros (American Medical do Brasil, São Paulo, Brasil). A densidade corporal e o percentual de gordura foram estimados, respectivamente, por meio das equações de JACKSON; POLLOCK (1978) e SIRI (1961), a partir das dobras cutâneas de peito/tórax, abdômen e coxa (homens),

obtidas por meio de compasso Harpenden, modelo HSK-BI da British Indicators® (Burgess Hill, Reino Unido). Considerando os erros de estimativas que envolvem o cálculo da gordura corporal através de equações preditivas, também foi realizado o somatório das dobras cutâneas dos atletas (Apêndice E), cujos valores podem representar um indicador mais preciso das modificações que ocorrem na gordura corporal do que os próprios valores de percentual de gordura exibidos pelas equações. O Índice de Massa Corpórea foi calculado pela divisão da massa corporal pela estatura em metro ao quadrado (HEYWARD; STOLARCZYK, 1996).

### 6.7.2 Avaliação nutricional

Para avaliação do perfil dietético dos participantes, antes dos ensaios clínicos foram realizados anamnese e levantamento da história clínico-nutricional dos atletas, sendo aplicado o inquérito de recordatório alimentar habitual para se obter informações acerca dos hábitos alimentares comuns dos indivíduos (Apêndice F) e, por conseguinte, conhecer a respectiva ingestão dietética média habitual dos atletas. (GOUVEIA, 1978; MONTEIRO, 1986). Os participantes foram submetidos à recordatório da dieta habitual com o objetivo de se conhecer o consumo de macronutrientes, micronutrientes e antioxidantes na dieta. Nutricionistas treinados promoveram orientações verbais, através de palestras e atendimento ambulatorial individual com os atletas, onde foi abordada à importância da melhora dos hábitos alimentares e da dieta habitual dos voluntários. O valor energético da ingestão habitual dos atletas foi determinado através de registro alimentar de três dias consecutivos de alimentação usual, incluindo também a média de consumo no final de semana. A quantidade ingerida na dieta para macronutrientes e micronutrientes foi calculada através de software de análise nutricional (*Virtual nutriplus*®, SP, Brasil, 2008), com base na ingestão dietética de referência (DRIs, 2005; ADA, 2009), o que possibilitou estimar a quantidade média de macro e micronutrientes ingeridos habitualmente pelos voluntários. Os dados foram tratados descritivamente e para comparação de ingestão de nutrientes, com e sem o consumo da bebida nas condições controle e experimental foi utilizado Teste *t* de *Student*, com significância de 95% ( $p \leq 0,05$ ). Na Figura 19 está ilustrada a realização das análises antropométrica e dietética, antes da realização dos protocolos máximos de exercício nos ensaios piloto e controlado.



**Figura 19** Avaliação antropométrica e dietética para os ensaios clínicos

#### 6.7.2.1 Ensaio piloto: Protocolo de corrida em campo

Os atletas para serem incluídos no ensaio deveriam treinar cinco vezes por semana de forma regular há pelo menos dois (2) anos e não poderiam usar suplementos, consumirem álcool ou cafeína, até 48 horas antes dos testes. Antes de participar do estudo, deveriam entender todos os procedimentos do protocolo de pesquisa e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após estes procedimentos, os atletas realizaram dois protocolos de corrida em campo em pista regular e oficial de atletismo (400 m) no Centro de Educação Física Almirante Adalberto Nunes, CEFAN (Marinha, Rio de Janeiro). O primeiro teste em campo consistiu na mensuração do tempo de corrida gasto para percorrer uma distância de 2,4 Km em 12 minutos, baseado na frequência cardíaca máxima (60-80%). O ensaio de corrida em campo (com intervalo de 48 horas) foi realizado pela manhã, em temperatura ambiente que variou entre 24 a 27 °C. A distância média percorrida correspondeu a 3200 metros (1.988 milhas), com intensidade pré determinada pelos treinadores (70% do  $VO_{2máx}$ ). O tempo percorrido pelos voluntários ao final do teste oscilou entre 15 a 18 minutos ( $16,64 \pm 1,08$  min) e a média da ( $FC_{máx}$ ) foi de  $170 \pm 30,0$  bpm. Para determinação prévia da intensidade da corrida, os atletas foram submetidos a Teste de Cooper, cuja intensidade média da corrida para este

protocolo correspondeu a  $58,97 \pm 2,49 \text{ mL} \cdot \text{Kg}^{-1}$  do  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ . Na Figura 20 está ilustrada a realização da corrida em campo no CEFAN/RJ com acompanhamento dos treinadores envolvidos (CEFAN/Marinha/RJ).



**Figura 20** Ensaio piloto: corrida em campo.

#### 6.7.2.2 Ensaio piloto: Suplementação da bebida à base de açaí

Os atletas foram orientados a manter a dieta habitual e um desjejum balanceado antes dos testes de corrida em campo e instruídos no primeiro teste de corrida em campo a consumirem 300 mL de uma bebida controle (CD: 300 mL). Após o primeiro teste foram orientados a consumirem, além da dieta habitual com reduzida ingestão de antioxidantes, a bebida energética à base de açaí (AD), durante três dias pela manhã. O valor nutricional da AD (300 mL) foi de 217,8 Kcal; 7,8 g de proteínas; 3,4 g lípidios; 39,0 g de carboidratos; 6,2 mg de vitamina E e 28,3 mg de antocianinas totais. A composição nutricional da CD (300 mL) correspondeu a 206,5 kcal; 4,2 g de proteínas; 42,0 g carboidratos; 2,45 g lípidios; 23,8 mg vitamina C e 126 mcg de folato.

#### 6.7.2.3 Ensaio controlado: Teste de aptidão cardiorrespiratória

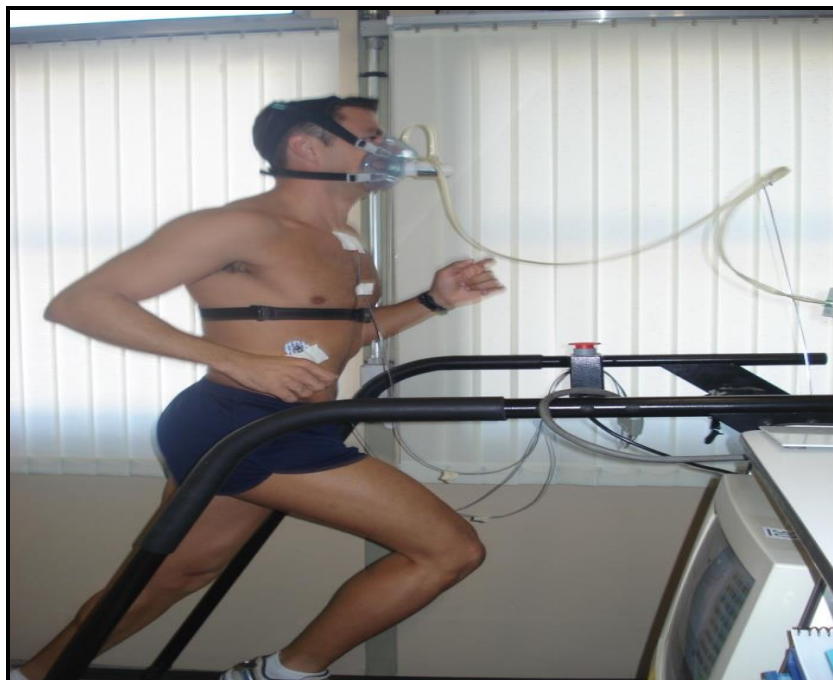
O teste cardiorrespiratório foi realizado no ensaio controlado para análise das trocas gasosas e da capacidade aeróbica do grupo (HOWLEY; BASSETT; WELCH,



1995), através de protocolo de rampa individualizado. A capacidade cardiorrespiratória reflete a capacidade do sistema cardiorrespiratório em fornecer oxigênio aos músculos em atividade, durante um exercício dinâmico. O principal determinante é a potência aeróbia máxima, que equivale ao montante de oxigênio consumido por unidade de tempo durante uma atividade máxima, o que envolve grandes grupos musculares. O melhor índice da potência aeróbia máxima e, conseqüentemente, da função cardiorrespiratória, é o consumo (captação) de oxigênio de pico ( $\text{VO}_2$  de pico). De forma geral, é expresso como volume de oxigênio consumido por minuto ( $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e/ou volume de oxigênio consumido por minuto em relação ao peso corporal ( $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Contudo, para apreciação do desempenho em atividades específicas, informações de ordem periférica também são importantes. Deste modo, o conhecimento do consumo de oxigênio, associado à intensidade do esforço na qual ocorre o limiar anaeróbio, é importante para o planejamento do treinamento visando à melhoria do desempenho em atividades aeróbias.

Para obtenção dos indicadores de treinamento, foi utilizado um protocolo individualizado em rampa com incremento simultâneo da velocidade e inclinação da esteira (PORSZASZ *et al.*, 2003). A vantagem deste protocolo, em comparação com protocolos escalonados com cargas fixas mantidas durante longos minutos, é a provável obtenção de cargas finais de teste mais elevadas, em razão da menor duração dos estágios e, por conseguinte, melhor tolerância ao esforço pelos indivíduos (CUNHA *et al.*, 2010).

Outra justificativa para aplicação deste protocolo recai na identificação mais precisa dos limiares ventilatórios favorecendo, assim, a determinação de intensidades mais precisas de treinamento (MYERS *et al.*, 1991). Na Figura 21 um participante do ensaio controlado realizando o teste cardiorrespiratório no LABSAU/IEFD, UERJ.



**Figura 21** Teste cardiorrespiratório em rampa.

#### 6.7.2.3.1 Protocolo de esforço cardiorrespiratório

O teste de rampa foi realizado no LABSAU, IEFD/UERJ e foi precedido por um período de 3 a 5 minutos de repouso, após a introdução da máscara facial acoplada a um pneumotacógrafo de fluxo médio, cujo objetivo foi o de estabelecer uma linha de base, para verificar qualquer anormalidade na coleta junto ao analisador metabólico. Em seguida, foi realizado um aquecimento de três minutos de caminhada a uma velocidade de  $5,0 \text{ km.h}^{-1}$ . A intenção foi a de proporcionar a queda do quociente respiratório a  $\leq 0,80$ , considerado este valor ideal para o início do teste, e para causar as modificações metabólicas e funcionais necessárias desde a inércia até a realização do teste de exercício cardiorrespiratório.

Para a determinação dos limiares ventilatórios foram utilizadas as variáveis: consumo de oxigênio ( $\text{VO}_2$ ) e produção de dióxido de carbono ( $\text{VCO}_2$ ), através de seus equivalentes ventilatórios ( $\text{VE}/\text{VO}_2$ ) e ( $\text{VE}/\text{VCO}_2$ ), bem como das frações expiradas finais de  $\text{O}_2$  ( $\text{PETO}_2$ ) e  $\text{CO}_2$  ( $\text{PETCO}_2$ ). Assim, o limiar ventilatório 1 (LV1) foi caracterizado como o aumento da  $\text{VE}/\text{VO}_2$  acompanhado de aumento da  $\text{PETO}_2$ , sem mudança equivalente da  $\text{VE}/\text{VCO}_2$  e  $\text{PETCO}_2$ . Já o limiar ventilatório 2 (LV2), foi aquele que possibilitou observar um aumento concomitante da  $\text{VE}/\text{VO}_2$ ,  $\text{VE}/\text{VCO}_2$  e  $\text{PETO}_2$  com declínio da  $\text{PETCO}_2$  (BEAVER; WASSERMAN; WHIPP, 1986).

A partir do  $VO_{2\text{pico}}$  obtido no CPET (protocolo em rampa), foram calculadas a velocidade de corrida e a inclinação da esteira associadas a 60% e 90% do  $VO_{2\text{pico}}$  para determinação da intensidade de exercício. O protocolo de treinamento foi subdividido em três períodos: 3 minutos de caminhada ( $5 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ ), 5 minutos com carga contínua a 60% do  $VO_{2\text{pico}}$  e, posteriormente, 90%  $VO_{2\text{pico}}$  até a exaustão.

Em todos os protocolos foram adotados três, dos cinco critérios adotados para considerar o teste verdadeiramente máximo, a saber: a) exaustão voluntária máxima; b) razão de troca respiratória ( $R$ )  $> 1,15$ ; c) atingir 90% da  $FC_{\text{máx}}$  estimada pela equação [ $FC_{\text{máx}} = 220 - \text{idade}$ ], ou ausência de acréscimo da FC mediante aumento de carga; d) platô no  $VO_2$  (variação menor que  $2,1 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ , entre duas cargas consecutivas) (HOWLEY; BASSETT; WELCH, 1995); e) Borg CR-10  $\geq 9$  (BORG, 2000).

A Figura 22 contém o resumo do protocolo cardiorrespiratório definido para o ensaio clínico controlado e mostra todas as etapas que deveriam ser cumpridas para a realização do esforço de corrida incremental em rampa, incluindo os critérios considerados para o teste ser verdadeiramente máximo.

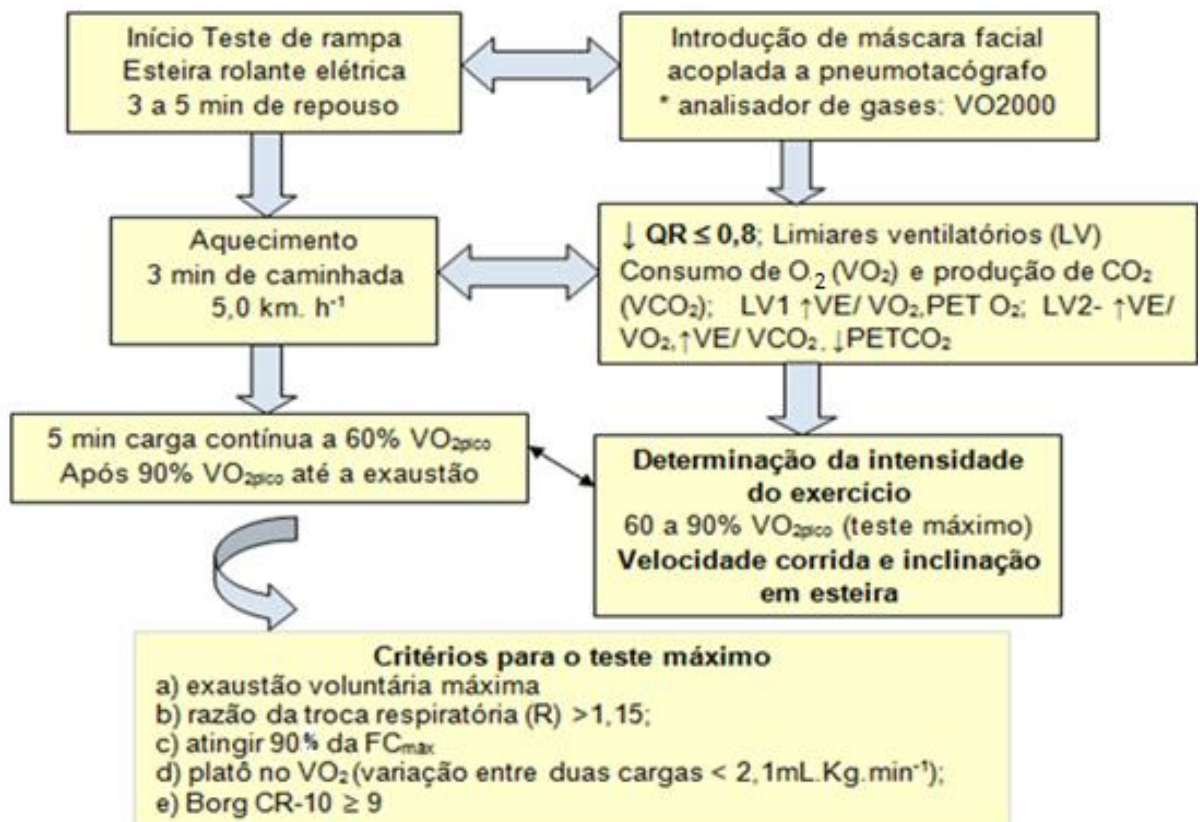


Figura 22 Protocolo de esforço cardiorrespiratório

A escala de Borg foi criada para classificação da percepção subjetiva de esforço, em que o indivíduo utiliza a escala para apontar sua própria percepção de esforço (cansaço, fadiga e ofegância), reportando ao profissional de Educação física, como está se sentindo no momento com o exercício (BORG, 1982; 2000). Esta escala foi utilizada para somar à segurança do protocolo de esforço e estabelecer as variáveis de percepção de fadiga local e central durante o ensaio controlado. No Quadro 5 estão demonstradas as intensidades de esforço segundo a Escala de Borg CR10 utilizada pelo estudo.

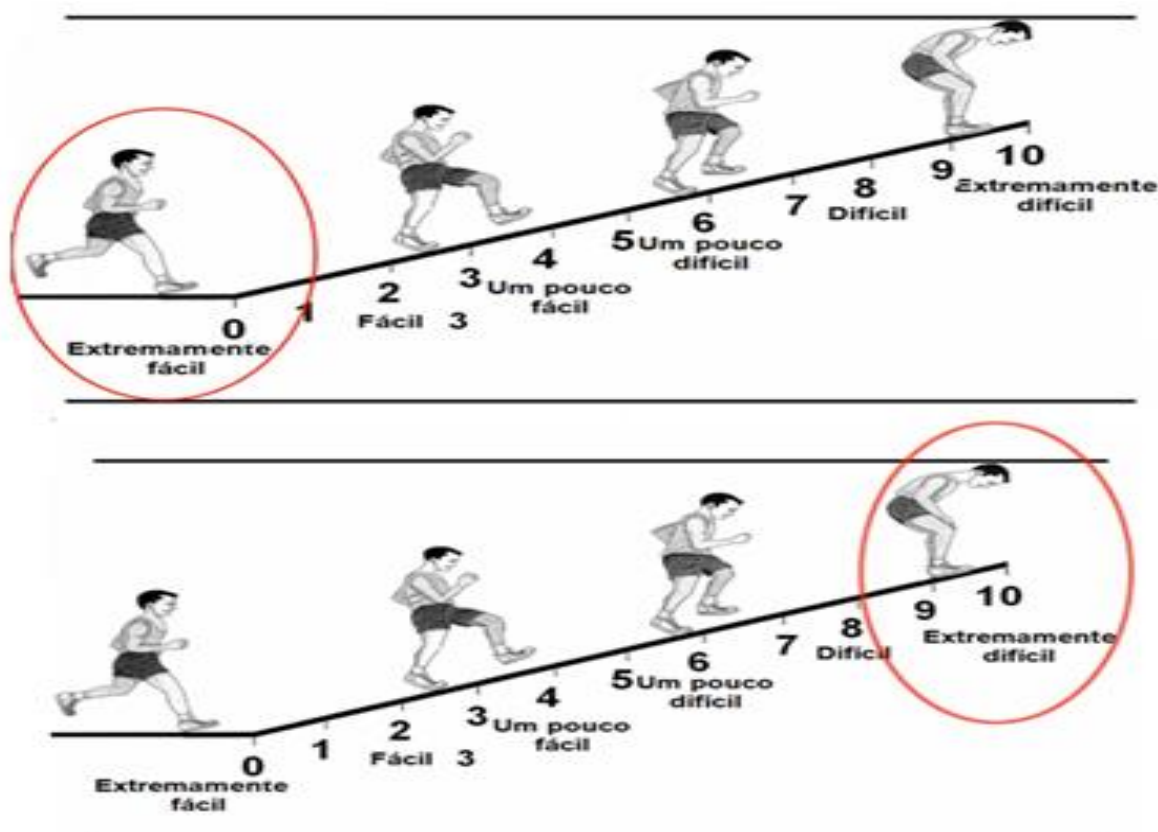
**Quadro 5** Escala de Borg CR10

<b>Escala de Borg Modificada - CR-10</b>	
	<b>Intensidade</b>
0	Nenhuma
0,5	Muito, muito leve
1	Muito leve
2	Leve
3	Moderada
4	Pouco intensa
5	Intensa
6	Um pouco difícil
7	Muito intensa
8	
9	Muito, muito intensa
10	Máxima

Adaptado de <http://3.bp.blogspot.com/-tWh8zqIKqAY/Tp4Kq8tWSy/AAAAAAAAALA/BjcdzZz5G60/s1600/escala+de+borg.jpg>. Acesso em 10/10/2013.

Durante o protocolo, caso não fosse detectado um platô no consumo de oxigênio, era considerado como valor máximo o valor de pico registrado ( $VO_{2pico}$ ). Para a medida e análise dos gases expirados, foi utilizado um analisador metabólico VO2000, (*Medical Graphics®*, Saint Louis, EUA).

O teste foi realizado na esteira rolante elétrica Super ATL (*Inbrasport®*, Porto Alegre, Brasil). As condições de temperatura ambiente foram mantidas entre 20-22 °C, e a umidade relativa do ar em torno de 50-70%. Os equipamentos foram previamente calibrados, de acordo com as instruções do fabricante. Na Figura 23 está ilustrada de forma meramente esquemática, a noção da percepção subjetiva de esforço.



**Figura 23** Esquema de percepção subjetiva de esforço baseado na escala de Borg CR10.  
 Fonte: BORG.png&imgrefurl=http://kilorias.band.uol.com.br/ Acesso em 10/10/2013.

Durante o ensaio controlado, para o teste de aptidão cardiorrespiratória e para o teste máximo em rampa foram recrutados cinco atletas por vez, para as condições controle (WAED) e experimental (AED), entre 15 e 30 dias após o teste de aptidão cardiorrespiratória preliminar.

Os testes foram realizados em parceria com o Laboratório de Atividade Física e Promoção de Saúde (LABSAU), no Instituto de Educação Física e Desportos (IEFD) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e no CEFAN/Marinha/RJ, no Laboratório de Fisiologia do Exercício.

Nas Figuras 24a e 24b estão representadas as ilustrações com voluntários realizando o protocolo incremental em rampa acompanhados de especialistas (LABSAU/IEFD, UERJ e CEFAN/RJ).



**Figura 24a** Teste incremental em rampa (LABSAU, IEFD/UERJ).



**Figura 24b** Esteira rolante elétrica e teste incremental em rampa no CEFAN/ Marinha,RJ

#### 6.7.2.4 Suplementação da bebida no ensaio controlado

Para o ensaio controlado, os participantes foram orientados a manter a dieta habitual e a não usarem quaisquer tipos de suplementos ou bebidas contendo antioxidantes ou cafeína até 48 h antes dos testes. Foi incluída no café da manhã um suco de fruta adoçado com maltodextrina para equilibrar o jejum (300 mL) correspondendo a condição controle (WAED). Foi recomendado aos atletas que consumissem dieta balanceada antes dos testes nas duas condições do estudo (WAED: controle e AED: experimental), o que incluiu também a orientação de consumo de café da manhã balanceado antes dos testes, com o objetivo de evitar prejuízos no desempenho durante o protocolo de rampa. Ao final do primeiro teste até a exaustão, os atletas consumiram 300 mL da bebida à base de açaí (AED). Os voluntários também foram orientados a consumirem a AED durante três dias consecutivos e uma hora antes do último exercício com cargas contínuas até a exaustão.

#### 6.7.3 Análises bioquímicas e hematológicas nos ensaios clínicos

Os atletas em ambos os ensaios foram submetidos a análises hematológicas prévias para verificação do *status* de saúde do grupo e para avaliar se os indivíduos estariam aptos para serem incluídos ou se seriam excluídos dos testes. O sangue foi coletado por um especialista, através de punção em veia de antebraço de cada atleta em sistema a vácuo (Vacuette, Greiner Bio-one™, Bad Haller Strabe, Kremsmünster Austria e BD Vacutainer™, Franklin Lakes, NJ USA), em repouso e imediatamente após os protocolos de corrida em campo e incremental em rampa.

As análises sanguíneas foram realizadas em triplicata usando kits clínicos específicos, de acordo com as especificidades de cada marcador. Os biomarcadores selecionados foram mensurados antes e após corrida em campo a 70% do  $VO_{2max}$  (ensaio piloto) e antes e após o protocolo em rampa com cargas contínuas a 90% do  $VO_{2max}$  (ensaio controlado). Foram analisados marcadores de perfil hematológico (série vermelha), de resposta imunológica (contagem de leucócitos totais, linfócitos e células segmentadas maduras: neutrófilos), marcadores de injúria muscular (amônia, creatinina, urato, ureia), atividade de enzimas hepáticas: Alanina aminotransferase (EC 2.6.1.2; ALT), Aspartato aminotransferase (EC 2.6.1.1; AST), Lactato desidrogenase (EC 1.1.1.27; LDH), Creatinoquinase total (EC 2.7.3.2; CK) e

marcadores de estresse oxidativo, a saber: MDA e GPx (EC 1.11.1.9). Nos ensaios piloto e controlado, os indivíduos após terem sido submetidos à coleta sanguínea antes e após a corrida em campo, nas condições controle e experimental tiveram os marcadores de estresse muscular (amônia, ureia, urato, creatinina, AST, ALT, LDH e CK) e oxidativo (GPx e MDA) analisados.

Para análise do hemograma (séries vermelha e branca) foi utilizado método automatizado de impedância elétrica (Cell-Dyn 3700). Amônia foi mensurada por sistema enzimático colorimétrico (química seca), segundo método Trinder, via reação da glutamato desidrogenase (KAGEYAMA, 1971). Urato, ureia e creatinina foram analisados por método cinético-colorimétrico (Labtest Diagnóstica®, Brasil). Enzimas hepáticas, por método cinético com fotometria no ultravioleta-UV/IFCC (ROSCOE, 1953; Labtest Diagnóstica®, Brasil). MDA por método espectrofotométrico, via separação do MDA por HPLC (detecção no UV a 532 nm), via reação com ácido tiobarbitúrico e MDA em adultos (THEROND *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 1980). A GPx foi analisada no sangue por método cinético enzimático (HALBERT; BALDWIN, 1985; FLOHÉ; GÜNZLER, 1984).

As amostras sanguíneas foram coletadas em tubos com ou sem a adição de aditivos e gel de separação. O sangue coletado foi imediatamente centrifugado (3.000 x g, 10 min) e alíquotas de sangue, plasma e soro foram armazenadas sob refrigeração a 6-8°C (análises hematológicas) ou em temperatura de -20°C (plasma/soro), até os procedimentos de análise. As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas em parceria com o Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises Clínicas (LACFAR/FF/UFRJ) e com o Laboratório Sérgio Franco (RJ).

No ensaio piloto, foi adaptado um Laboratório próximo à pista de corrida, protegido do sol, a fim de possibilitar o tempo adequado à coleta de sangue (45 a 60 segundos) e também evitar a perda de substâncias voláteis e da atividade dos biomarcadores analisados.

Para o estudo controlado foi montado um mini laboratório próximo ao local do ensaio, onde estava a esteira rolante elétrica, com todos os materiais e equipamentos necessários para a coleta sanguínea, em ambiente climatizado e com especialistas disponíveis, para quaisquer eventualidades durante os procedimentos



de análises. A descrição dos marcadores, seus valores de referência e método de análise estão representados no Quadro 6.

**Quadro 6** Resumo dos marcadores analisados, métodos e valores de referência

Marcadores	Ud	*Valor de referência	Método
<b>Amônia</b>	μmol/L	11 a 32	Enzimático colorimétrico, química seca
<b>Urato</b>	mmol/L	0,2 - 0,5	Enzimático; kit LabTest®
<b>Creatinina</b>	μmol/L	53,4- 106,1	Enzimático; kit LabTest®
<b>Ureia</b>	mmol /L	2,5- 7,5	Enzimático UV; kit LabTest®
<b>CK total</b>	U/L	15 – 105; *25-130	Cinético UV
<b>LDH</b>	U/L	100-190	Cinético; método Piruvato/Lactato
<b>AST</b>	U/L	10-40	Cinético UV
<b>ALT</b>	U/L	10-35	Cinético UV
<b>GPx</b>	U/gHg	10,0-15,2	Enzimático colorimétrico (HPLC)
	U/L	4171- 10881	
<b>MDA</b>	mmol /L	Até 4,8	Colorimétrico, separação TBA/MDA (HPLC)
<b>Leucócitos</b>	x 10 <sup>9</sup> /L	5000- 8000	Impedância elétrica (automatizado)
<b>Linfócitos</b>	Cél. %	25-45	Impedância elétrica (automatizado)
<b>Segmentados</b>	Cél. %	36-66	Impedância elétrica (automatizado)

\*Valores de referência segundo padrão de normalidade na população masculina adulta. \*CK no exercício  
Fonte: BURTIS; ASHWOOD, 2008.

Na Figura 25 estão ilustrados os Laboratórios improvisados para a coleta de sangue dos voluntários nos ensaios piloto e controlado, respectivamente e os procedimentos utilizados para as análises hematológicas e bioquímicas durante o estudo clínico.



**Figura 25** Ilustrações dos laboratórios improvisados para a coleta de sangue no ensaio piloto (CEFAN/Marinha/RJ) e controlado (LABSAU,IEFD/UERJ) e os procedimentos de coleta durante o ensaio clínico.

#### 6.7.4 Desenho experimental

As avaliações clínicas e os testes ocorreram em período de uma semana para cada atleta e quatro dias foram requeridos para a suplementação aguda. No ensaio piloto, os indivíduos realizaram coleta sanguínea prévia para análise do perfil glicêmico e hematológico e realizaram teste de Cooper para que fosse estimado o  $VO_{2\text{máx}}$  do grupo (14 dias antes dos testes).

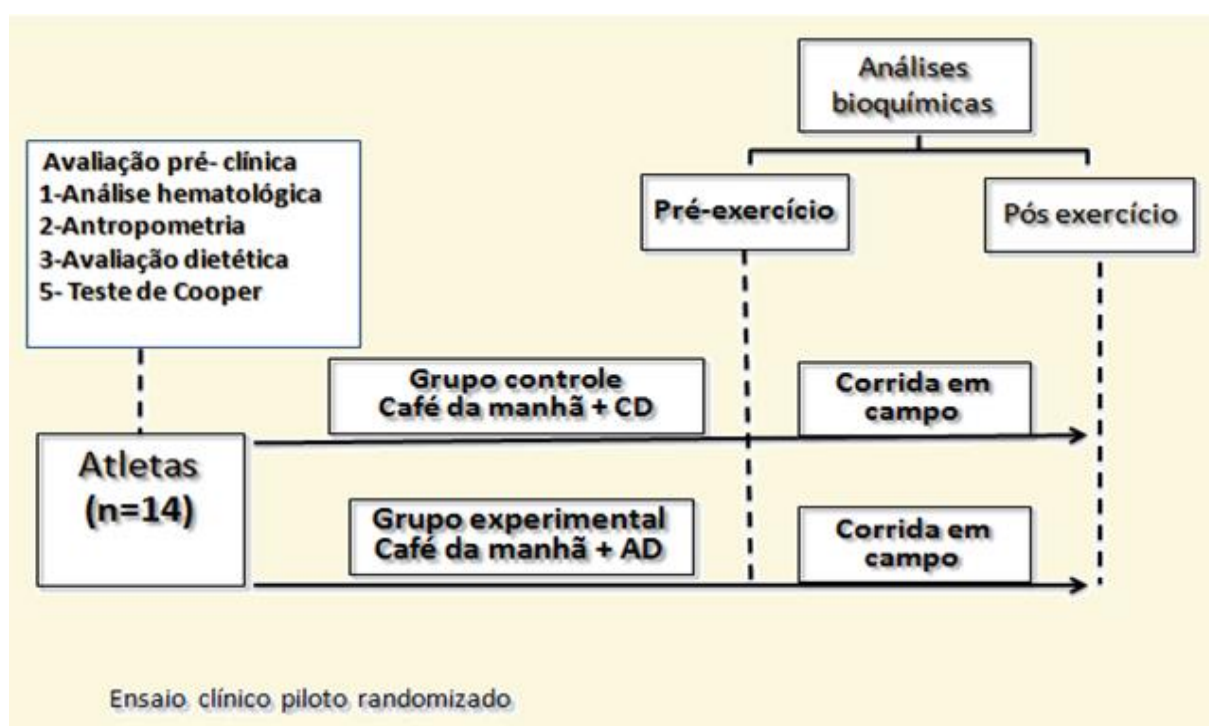
As análises clínicas prévias foram realizadas para verificar a condição clínica dos atletas para o estudo, cujo objetivo foi o de detectar possíveis alterações clínicas e/ou metabólicas que impedissem a realização dos testes. Na primeira etapa do ensaio piloto, após a análise do perfil clínico dos sujeitos, estes foram orientados quanto aos testes físicos, consumo da bebida, melhora da dieta habitual, dieta para os testes e procedimentos das análises sanguíneas.

A alimentação dos participantes foi orientada de modo que a distribuição de macronutrientes e micronutrientes estivesse equilibrada para o protocolo de corrida definido para o estudo clínico. A dieta foi baseada nos alimentos de consumo usual

dos atletas, porém, com redução no consumo de bebidas e alimentos com nutrientes antioxidantes e frutas vermelhas, durante o ensaio clínico com a bebida.

Foram estabelecidas para o grupo cinco refeições diárias e orientada a ingestão da bebida energética à base de açaí durante quatro vezes (300 mL; 1,2 L). Os sujeitos foram orientados a realizar jantar e desjejum habitual com cardápio e valor energético equilibrados. A bebida controle foi consumida no dia do primeiro teste e a bebida à base de açaí (AD) foi consumida ao término do primeiro teste na condição controle (CD) e durante mais três dias antes do último teste de corrida em campo.

A análise pré-clínica ocorreu em repouso, com jejum de pelo menos oito horas. Foram também realizadas avaliações antropométrica, nutricional, hematológicas e bioquímicas durante o ensaio piloto, como demonstrado no desenho experimental (Figura 26).



Grupo controle (café da manhã + CD: bebida controle); Grupo experimental (café da manhã + AD: bebida energética à base de açaí). Pré-exercício e pós-exercício: antes e depois do protocolo de corrida em campo à 70%  $VO_{2máx}$ .

**Figura 26** Desenho experimental Ensaio piloto.

Para o ensaio controlado, um grupo de 14 atletas ( $n=14$ ) do sexo masculino (pentatlo aeronáutico, maratonistas e velocistas), em fase competitiva de treinamento participou voluntariamente do estudo. Os atletas, além das análises antropométrica, nutricional, bioquímica e hematológica foram submetidos a teste de aptidão cardiorrespiratória prévio, realizando um teste cardiopulmonar máximo em rampa (CEPT) e avaliação da percepção subjetiva de esforço (Borg CR10).

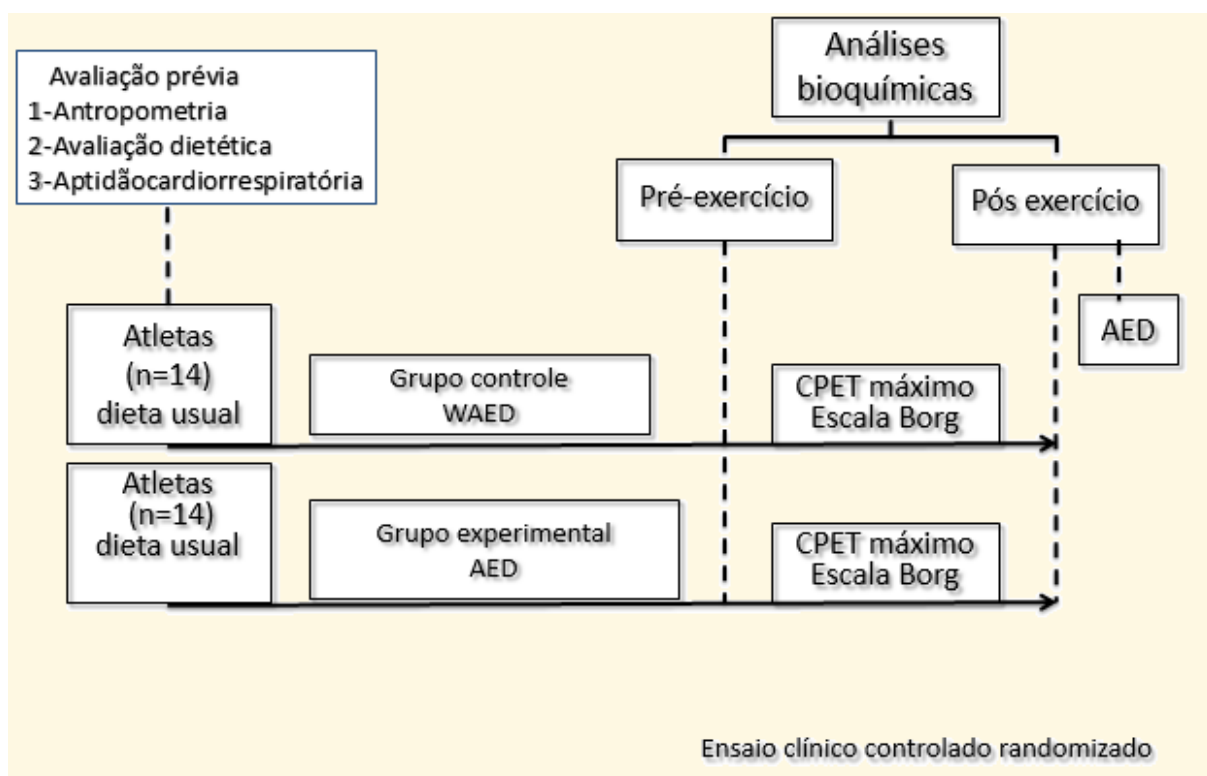
A AED foi consumida quatro vezes (300mL; 1,2 L), após o primeiro teste até a exaustão (condição controle) e durante mais três dias e no último dia do teste em rampa até a exaustão.

No ensaio controlado, cada atleta realizou quatro visitas ao Laboratório em dias separados. No primeiro dia, foi realizada anamnese nutricional e avaliação dietética do grupo, através de recordatório habitual de três dias e levantadas também informações acerca do uso de suplementos nutricionais e substâncias ergogênicas. A avaliação foi necessária para conhecimento dos hábitos alimentares e de suplementação dos atletas.

Adicionalmente, foi realizada avaliação antropométrica e hematológica para análise das características morfológicas e de saúde do grupo para os testes. Na semana seguinte, os participantes realizaram o protocolo incremental em rampa, para análise da aptidão cardiopulmonar máxima (CPET).

Na terceira e quarta visitas, 72 horas depois do CPET, foram realizados dois exercícios em rampa, com incremento simultâneo de velocidade e inclinação até a exaustão a 90% do  $VO_{2máx}$ , na condição controle (dieta habitual balanceada- WAED) e com o consumo da bebida à base de açaí (dieta habitual + bebida energética à base de açaí: AED).

O ensaio controlado objetivou verificar o papel da bebida à base de açaí (AED) no aumento do tempo da corrida até a exaustão, nas respostas cardiorrespiratórias, na percepção do esforço e no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo, quando comparada a condição controle. A ordem das duas cargas de exercício foi randomizada e cada exercício foi separado por 48 horas. Na Figura 27 está representado o desenho experimental e os procedimentos do ensaio controlado.



AED- condição experimental; WAED- condição controle; CPET- teste cardiopulmonar em rampa; CPET<sub>máx</sub> Teste cardiopulmonar em rampa com cargas contínuas a 90% do VO<sub>2máx</sub>; Pré-exercício e pós-exercício: antes e após o protocolo incremental em rampa.

**Figura 27** Desenho experimental do ensaio controlado.

Todos os participantes tinham experiência prévia com esteira rolante e não apresentaram dificuldade ou limitação nos movimentos. Os testes foram realizados na mesma esteira motorizada (Inbramed™ Super ATL, Porto Alegre, RS, Brasil). A temperatura ambiente variou de 19 °C a 22 °C e a umidade relativa do ar entre 50% a 70%.

6.7.4.1 Bebida à base de açaí (AD, AED) para consumo nos ensaios: conteúdo nutricional, polifenóis e antocianinas totais e atividade antioxidante (ORAC).

A bebida energética à base de açaí liofilizado foi desenvolvida e selecionada a partir de planejamento fatorial fracionário, que gerou oito formulações. A formulação de maior atividade antioxidante foi selecionada para ser consumida durante os testes. O conteúdo energético, de carboidratos, lipídios e proteínas foi determinado por análises físicas e químicas (AOAC,1995; 2000; IAL, 2005). A concentração de polifenóis totais foi quantificada na bebida por método

espectrofométrico usando reagente de *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). A teor total de antocianinas monoméricas (ACT) foram calculadas por pH diferencial e expressas como cianidina 3-glucosídeo (cid-glu) (LEE; DURST; WROLSTAD, 2005).

A atividade antioxidante na bebida foi determinada pelo método ORAC (DÁVALOS; GOMEZ-CORDOVÉS; BEGÕNA, 2004), com reação conduzida em tampão fosfato a 75 mM (pH-7,4), a 37 °C, usando Trolox (100 nM) como solução padrão. As leituras das fluorescências foram tomadas a cada minuto durante, 80 minutos ( $\zeta$ excitação: 485 nm e  $\zeta$ emissão: 520 nm) em espectrofluorímetro (FLUOstar Omega, BMG Labtech®).

#### 6.7.4.2 Protocolo de exercício máximo e condições controle no ensaio controlado

O protocolo individualizado em rampa incorporou incrementos simultâneos de velocidade e inclinação na esteira, a fim de se conhecer o limite de tolerância de cada atleta ao exercício em 10 minutos (BUCHFUEHRER *et al.*, 1983). Inicialmente, foi aplicado um modelo para estimar o  $VO_{2m\acute{a}x}$ , desenvolvido para população saudável sedentária, entre 19 e 80 anos. Baseado na predição de captação máxima de oxigênio, a taxa final de trabalho foi calculada usando a equação para corrida do *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2009).

O teste de corrida foi caracterizado por simultâneas mudanças na velocidade e inclinação na esteira (PORSZASZ *et al.*, 2003). Um aquecimento de três minutos foi realizado a 5,0 km·h<sup>-1</sup> (0% grau). A inclinação inicial e final na esteira foi fixada em 2% a 5 %, respectivamente, para o CPET. As velocidades na esteira a 60% e 100% da predição do  $VO_{2m\acute{a}x}$  foram então calculadas para o período inicial [média (SD) 8,7 (0,7) km·h<sup>-1</sup>] e para a taxa final de trabalho [média (SD) 13,2 (1,0) km·h<sup>-1</sup>], respectivamente. Baseado no  $VO_{2pico}$  obtido no protocolo em rampa, foram calculados a velocidade de corrida e a inclinação da esteira, em ordem a permitir comparações das respostas cardiorrespiratórias dentro das cargas de exercício, devido à inter e intra variação, entre o tempo dos sujeitos até à exaustão. Os dados para a duração total de cada carga de exercício foram divididos em quartis. Em todos os protocolos, foram adotados três dos cinco critérios adotados para considerar o teste máximo, a saber: a) exaustão voluntária máxima como a definida pelo escore 10 na escala de Borg CR-10; b) atingir 90% da frequência cardíaca

máxima estimada pela equação [ $F_{C_{\text{máx}}} = 220 - \text{idade}$ ], ou presença de platô na frequência cardíaca ( $\Delta F_c$  entre 2 cargas consecutivas  $\leq 4 \text{ bat}\cdot\text{min}^{-1}$ ); c) presença de platô no  $\text{VO}_2$  ( $\Delta \text{VO}_2$  entre duas cargas consecutivas e variação  $< 2,1 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ); e d) razão de troca respiratória ( $\text{RER}_{\text{máx}} > 1,10$ ) (HOWLEY *et al.*, 1995).

Os sujeitos foram verbalmente encorajados a realizar o esforço máximo e não foi permitido que segurassem nas barras laterais ou frontalmente à esteira. A classificação para percepção de esforço local e central (L-RPE e C-RPE) foi avaliada pela escala de Borg CR10 ao final de cada minuto de exercício (BORG 1982a; 1982b). Os atletas indicaram uma L-RPE para sensações pertinentes aos músculos e articulações, e a C-RPE para o sistema respiratório e cardiovascular. Antes do exercício de carga, foram dadas instruções detalhadas e padronizadas a respeito das características e da correta classificação para ambas as fadigas central e local. O avaliador apontava os valores na escala de fadiga local e central, em frente aos sujeitos que indicavam, por aceno com a cabeça, o valor correspondente na escala.

Para a medida e análise dos gases expirados e ventilação por minuto foi utilizado o analisador metabólico VO2000, com máscara de silicone, sendo os dados avaliados retrospectivamente pela média do tempo dentro de 30 segundos. As médias de tempo de 30 segundos propiciaram uma boa faixa entre a remoção do ruído do  $\text{VO}_2$  enquanto se mantinha a tendência subjacente (MIDGLEY *et al.*, 2007). Antes dos testes, os analisadores de gases foram calibrados de acordo com as instruções dos fabricantes, usando mistura padrão certificada de oxigênio (17,01%) e dióxido de carbono (5,00%), balanceada com nitrogênio (AGA<sup>TM</sup>, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Fluxos e volumes do pneumotacógrafo foram calibrados com seringa graduada para capacidade de 3 mL (Hans Rudolph<sup>TM</sup>, Kansas, MO, USA). A temperatura na sala, durante todos os testes, variou entre 21 °C e 23 °C e a umidade relativa do ar, entre 55% e 70%.

#### **6.7.5 Análises estatísticas do ensaio clínico**

Os dados obtidos do ensaio piloto foram tratados descritivamente e expressos como média e erro padrão ( $\pm \text{SE}$ ). Os resultados para amônia, GPx e MDA foram representados através de gráficos de barras (média  $\pm$  erro padrão, SE). Os resultados foram comparados nas condições repouso e após corrida até exaustão nas condições controle e experimental (CD e AD), através de Teste *t* de Student

pareado a 95% do nível de significância ( $P < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SigmaPlot® com integração SigmaStat®, versão 10,0 para Windows (Sigmastat, San Diego, Califórnia).

No ensaio controlado, as análises estatísticas foram realizadas usando o programa IBM SPSS *Statistics*, versão 19,0 (SPSS Inc., Chicago, IL) para comparar os efeitos das condições controle e experimental, no desempenho físico ao longo do tempo, durante os dois exercícios com cargas contínuas até a exaustão, incluindo FC, C-RPE, L-RPE,  $VO_2$ , eliminação de dióxido de carbono ( $VCO_2$ ) e ventilação pulmonar ( $V_E$ ) obtidos durante cada carga de exercício.

Os dados foram divididos em quartis de tempo. A análise de variância Two-way (condição x tempo) foi utilizada em conjunto com modelos mistos de regressão linear para as medidas repetidas, com o intuito de constatar se as variáveis fisiológicas e de percepção de esforço aumentariam em função do tempo e se a extensão de qualquer efeito no tempo seria influenciada pelas condições do estudo (ex. AED *versus* WAED).

A normalidade dos escores das diferenças foi avaliada segundo intervalo quantil-quantil, sendo considerado plausível para cada instante do teste. O tempo até a exaustão e a análise de biomarcadores de estresse muscular e oxidativo observados em repouso e no pós-exercício nas condições AED e WAED foram comparados usando o Teste *t* de *Student* pareado. As diferenças na ingestão de nutrientes nas condições controle e experimental (WAED e AED) foram comparadas usando o Teste *t* de *Student* (SigmaPlot com integração Sigmastat 3.5, Systat, Ca, USA).

A distribuição das diferenças foi graficamente representada usando Bland-Altman, que inclui limites associados a 95% de significância (diferença média  $\pm 1,96$  vezes o desvio padrão das diferenças). A significância estatística para todas as análises foi aceita como  $p \leq 0,05$ .



## 7 RESULTADOS

### 7.1 AQUISIÇÃO DE POLPAS COMERCIAIS INTEGRAIS DE AÇAÍ, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL e pH

O estudo avaliou a qualidade nutricional e microbiológica de polpas comerciais de açaí usualmente consumidas no município do Rio de Janeiro. Os dados do valor energético, composição nutricional, umidade, sólidos totais e pH nas amostras das polpas comerciais de açaí estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7** Composição nutricional, valor energético (Kcal), pH e umidade das polpas integrais de açaí estudadas.

Polpa <sup>a</sup>	Umidade	Cinzas	Proteínas	CHOs <sup>b</sup>	Lipídios	% ST	Kcal	pH
A	93,5±0,78	0,2 ±0,01	0,8 ±0,02	3,2	2,3 ±0,11	6,5	36,7	5,36
B	93,0±2,91	0,2 ±0,03	0,5 ±0,01	4,0	2,3 ±0,01	7,0	38,7	4,17
C	88,2±0,61	0,5 ±0,00	1,0 ±0,02	4,5	5,8 ±0,04	*11,8	74,2	4,77
D	91,5±0,82	0,3 ±0,02	0,8 ±0,01	2,8	4,5 ±0,65	*8,8	54,9	4,51
E	85,9 ±0,36	0,3 ±0,02	0,8 ±0,03	6,8	6,1 ±0,20	*14,1	85,3	4,12
F	93,2 ±0,08	0,3 ±0,02	0,7 ±0,00	2,3	3,5 ±0,03	6,1	43,5	4,62
G	93,3 ±0,12	0,2 ±0,02	0,5 ±0,01	2,4	3,5 ±0,13	6,8	43,1	4,89
H	94,6 ±0,17	0,5 ±0,17	0,8 ±0,01	1,5	2,6 ±0,02	6,4	22,7	4,77
I	93,7 ±1,29	0,3 ±0,01	0,7±0,03	2,6	2,7 ±0,75	6,3	37,5	4,99
J	94,1 ±1,44	0,2 ±0,02	0,6 ±0,01	4,1	1,0 ±0,06	5,9	27,8	4,68
L	82,5±0,17	0,7±0,02	1,2±0,01	6,41	9,1±0,14	*17,5	111,5	4,72
M	86,9±0,13	0,5±0,11	1,1±0,02	4,8	7,9±0,52	*13,1	94,6	4,56

<sup>a</sup>Polpas comerciais integrais de açaí (n=12 marcas) expressas por letras (A-M). Composição centesimal em g.100 g<sup>-1</sup> (umidade, cinzas, proteínas, carboidratos (CHOs), lipídios e sólidos totais (ST)). <sup>b</sup>Método Nifext para o cálculo dos carboidratos (CHOs). Valores expressos como média±DP  
\*Polpas com maior teor de sólidos totais (% ST).

Os resultados obtidos foram comparados com os padrões de qualidade e identidade para polpa de açaí definidos pela legislação nacional (BRASIL, 2000). Os valores de pH variaram de 4,12 a 5,36 (Tabela 7; Quadro 7). Também foram calculados o conteúdo em matéria seca dos carboidratos, lipídios e proteínas

(Tabela 8), para comparar os resultados obtidos com a legislação (BRASIL, 2000), que estabelece os valores limite para polpas de açaí em 100 gramas de matéria seca em relação às proteínas, lipídios, carboidratos, sólidos totais, cinzas, umidade e pH (Quadro 7).

**Quadro 7** Características físicas e químicas das polpas de açaí em 100 g (matéria seca).

	*Mínimo	*Máximo
Proteínas (g / 100 g*)	5,0	-----
Lipídeos (g / 100g*)	20,0	-----
Carboidratos totais (g / 100 g*)	51,0	-----
Sólidos totais (% p/p)	40,0	60,0
Cinzas (% p/p)	-----	-----
Umidade (% p/p)	-----	-----
pH	4,0	6,2

\* Legislação para polpa de açaí em 100 g de matéria seca (BRASIL, 2000).

Os resultados obtidos para os carboidratos em matéria seca (Tabela 8) indicaram que as polpas A, B, E, I, J (41,3%) apresentaram-se em conformidade com a legislação. Por outro lado, as polpas, C, D, F, G, H, L, M estavam em desacordo com base nos resultados de carboidratos em matéria seca. Os resultados para o conteúdo de proteínas, para todas as polpas analisadas estavam de acordo com os requisitos legais. Para os teores de lipídios, apenas a polpa J (8,3%) encontrava-se fora dos limites estabelecidos em matéria seca. Com base nos resultados de qualidade nutricional das polpas de açaí, foi selecionada a melhor marca para liofilização.

A polpa de açaí adquirida para o estudo foi a do tipo médio ou regular da marca *AMAZONIA ENERGY* (Data/Lote: 12/11/10; 12/11/11), devidamente registrada no Ministério da Saúde (PA-07573 00002-2; Pro/nº21030.002048/2010-55), pertencente ao estabelecimento *Amazonian Health*- Indústria e Comércio de

Polpas Ltda (CNPJ 09.000.110/0001-28), localizada no Bairro Tapana, Belém, Pará, Brasil (Anexo A).

**Tabela 8** Valores dos teores de carboidratos, lipídeos e proteínas (g%) em matéria seca nas amostras de polpas de açaí.

Polpas Açaí	Carboidratos (g)	Lipídios (g)	Proteínas (g)	(*)
<b>A</b>	49,2	50,7	12,3	
<b>B</b>	*57,1	32,8	7,14	
<b>C</b>	33,8	49,1	8,47	
<b>D</b>	32,9	68,2	9,4	
<b>E</b>	48,2	43,2	5,7	
<b>F</b>	33,8	51,4	10,2	
<b>G</b>	35,8	52,2	7,5	
<b>H</b>	27,8	48,1	14,8	
<b>I</b>	41,2	42,8	11,1	
<b>J</b>	*69,4	*16,9	10,1	

\* Valores em não conformidade à Legislação (BRASIL, 2000).

## 7.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DAS POLPAS DE AÇAÍ

As polpas foram avaliadas quanto a sua qualidade microbiológica, já que está bem descrito que a análise microbiológica de alimentos é uma ferramenta importante para garantir padrões aceitáveis de microrganismos, segundo à legislação, sendo parte integrante da segurança alimentar. Padrões microbiológicos aceitáveis nas polpas das frutas são monitorados por autoridades sanitárias com base em critérios específicos, de acordo com o que se define na legislação (BRASIL, 2001; 2003).

O conteúdo nutricional e as propriedades de polpas frutas podem predispor ao aparecimento de microrganismos e à consequente deterioração microbiológica por contaminação de bolores, leveduras e bactérias ácido-tolerantes (BUENO *et al.*, 2002). Segundo a análise bacteriológica, as polpas de açaí apresentaram ausência de *Salmonella sp* em 25 g em 100% das amostras. Houve também conformidade para a contagem de coliformes fecais e totais, que se encontraram abaixo do limite preconizado ( $<10^2$  NMP.g<sup>-1</sup>) (BRASIL, 2003).

Os resultados para a análise micológica (bolores e leveduras) também estavam abaixo do limite ( $<10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>) definido pela legislação brasileira (BRASIL, 2003). Na Tabela 9 estão demonstrados os resultados das análises microbiológicas nas polpas de açaí estudadas.

**Tabela 9** Análise microbiológica das polpas comerciais de açaí.

Análises	Legislação	Resultados
Coliformes totais	$<10^2$ NMP.g <sup>-1</sup>	$<10^2$ NMP.g <sup>-1</sup>
Coliformes fecais	$<10^2$ NMP.g <sup>-1</sup>	$<10^2$ NMP.g <sup>-1</sup>
<i>Salmonella sp</i> 25. g <sup>-1</sup>	Ausência	Ausência
Bolores e leveduras	$<10^3$ UFC.g <sup>-1</sup>	$<10^3$ UFC.g <sup>-1</sup>

Polpas de açaí (n=12); NMP-número mais provável; UFC- Unidades formadoras de colônias.

A partir dos resultados obtidos para a análise microbiológica e nutricional, foram selecionadas as polpas de maior conteúdo em sólidos totais (n=3), para liofilização, a saber: E, L, M. O processo de liofilização de 50 Kg de polpa de açaí (marca M), registrada devidamente no MAPA (BRASIL, 2000) foi realizado em parceria com o Laboratório CBO Análises® Campinas/SP, Brasil. A liofilização da polpa foi realizada com o objetivo de serem desenvolvidos produtos funcionais adicionados de açaí liofilizado no Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico da Faculdade de Farmácia, do Departamento de Produtos Naturais e Alimentos/UFRJ (LabCBroM/ DPNA, FF/UFRJ).

### 7.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ LIOFILIZADO

As análises de conteúdo em fenólicos, antocianinas totais e de atividade antioxidante do açaí liofilizado pelos métodos DPPH e ORAC foram realizadas para selecionar a amostra de maior atividade antioxidante e antocianinas e fenólicos totais. Para calcular a concentração de fenólicos totais e da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ORAC foram preparadas curvas de calibração com os padrões ácido gálico e Trolox. As faixas de concentração do padrão ácido gálico para os métodos fenólicos totais e DPPH (padrão ácido gálico), para as análises do açaí liofilizado e bebidas foram de respectivamente: 0,3 a 6,0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $R^2= 0,992$ ; 0,35 a 2,13  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $R^2= 0,9919$ ; e método ORAC: padrão ácido gálico: 2 a 20  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $R^2= 0,98$ ; padrão trolox: 10 a 100  $\eta\text{M}$ ; 8 a 80  $\eta\text{M}$ ;  $R^2=0,98$ ; 0,97, demonstrando bom ajuste dos experimentos. As curvas de calibração estão representadas pelos Gráficos a, b, c, d, e, f, g (Apêndices G, H e I).

Os resultados para DPPH, fenólicos totais, antocianinas totais e ORAC para as amostras de açaí liofilizadas estão apresentados na Tabela 10. As amostras liofilizadas de açaí com alto teor de sólidos totais (polpas L, E, M) apresentaram bom conteúdo de fenólicos totais e antocianinas, no entanto, a polpa L apresentou os maiores teores entre os parâmetros analisados.

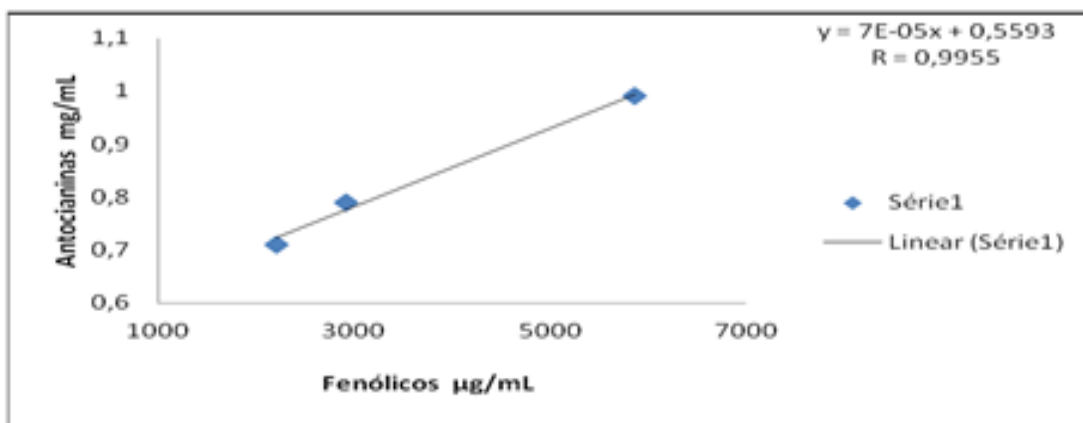
**Tabela 10** Conteúdo de fenólicos e antocianinas totais (ACT) e atividade antioxidante (DPPH e ORAC) nas amostras de açaí liofilizadas.

Análises	*Polpa L	*Polpa E	*Polpa M
Fenólicos totais (mg.100 mL <sup>-1</sup> )	5869	2921	2202
ACT (mg.100 g <sup>-1</sup> cid-glu)	99	79	71
ORAC (µg.mL <sup>-1</sup> )	4851	3781	3568
DPPH (µg.mL <sup>-1</sup> )	1,43	0,73	1,03

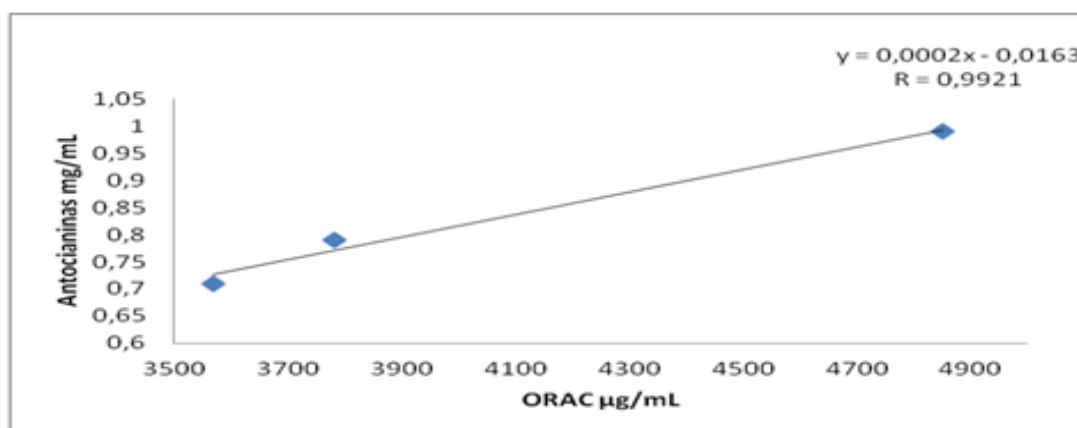
\*Amostras liofilizadas de açaí analisadas em triplicata. Conteúdo de ST% (L:17,5; E:14,1; M:13,1). Fenólicos totais/ ORAC expressos em equivalentes de ácido gálico (µg.mL<sup>-1</sup> EAG), ACT em mg.g<sup>-1</sup> de cianidina 3-glucosídeo (cid-glu), em matéria seca. DPPH expresso em µg.mL<sup>-1</sup> equivalentes de ácido gálico (µg.mL<sup>-1</sup> EAG).

Os resultados indicaram que os teores de fenólicos totais nas amostras variaram de 2202 a 5869 mg.100 mL<sup>-1</sup> e o de antocianinas totais entre 71 a 99 mg.100g<sup>-1</sup> em matéria seca. A capacidade de sequestro de radicais livres de DPPH (%SRL), expressos em µg.mL<sup>-1</sup> de ácido gálico entre as amostras L, E e M foram de 1,43 (%SRL= 68,72%), 0,73 (%SR = 41,56%) e 1,03 (%SRL= 53,9%). As unidades relativas de ORAC em equivalentes de ácido gálico (µg.mL<sup>-1</sup> EAG) foram de 4851; 3781; 3568, respectivamente (Tabela 10).

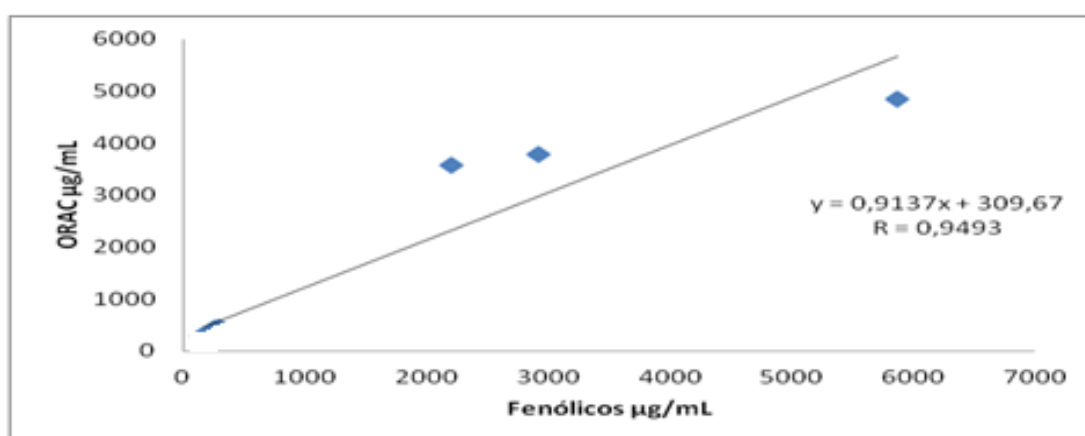
As amostras liofilizadas de açaí apresentaram forte correlação entre os métodos fenólicos totais, antocianinas totais e ORAC, de acordo com os resultados observados nos Gráficos 1, 2 e 3 (R>0,95), quando comparado ao método do DPPH (R<0,75) (Gráfico 4).



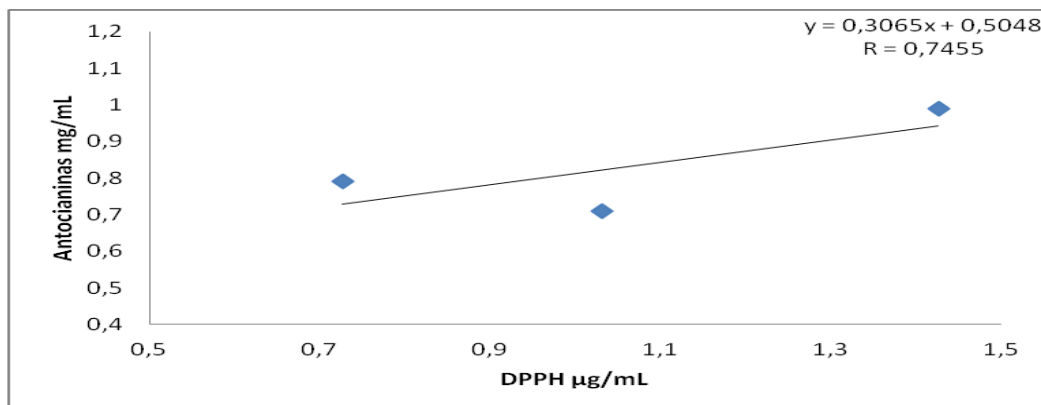
**Gráfico 1** Correlação entre os resultados das análises de conteúdo de fenólicos e antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3).



**Gráfico 2** Correlação entre os resultados das análises de atividade antioxidante pelo método ORAC e teores de antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3)



**Gráfico 3** Correlação entre os resultados das análises de atividade antioxidante pelo método ORAC e conteúdo de fenólicos totais no açaí liofilizado (n=3)



**Gráfico 4** Correlação entre os resultados das análises de atividade antioxidante pelo método do DPPH e teores de antocianinas totais no açaí liofilizado (n=3)

Os gráficos 1, 2 e 3 demonstraram que as amostras estudadas apresentaram correlação positiva e significativa entre o método ORAC e conteúdo de fenólicos totais ( $R = 0,9493$ ,  $p < 0,005$ ) e ORAC *versus* conteúdo de antocianinas totais ( $R = 0,9921$ ,  $p < 0,001$ ). Os métodos do DPPH e de antocianinas totais ( $R = 0,7454$ ,  $p > 0,03$ ) não apresentaram boa correlação, embora deva ser considerado que apesar do valor de  $R$  não ter sido significativo, o valor do coeficiente de correlação (0,7454), não foi negativo, o que mostrou uma tendência positiva entre os métodos (Gráfico 4).

#### 7.4 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO AÇAÍ LIOFILIZADO

Os resultados da composição nutricional demonstraram bom conteúdo de sólidos totais na amostra de açaí liofilizado que foi selecionada a partir da polpa M, classificada como polpa de açaí do tipo médio ou regular. Foi também observado bom conteúdo energético, de carboidratos, fibras, proteínas, lipídios insaturados e de ácido glutâmico. Ademais, o conteúdo de antocianinas, fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método ORAC atingiram níveis médios e foram considerados adequados para a elaboração da bebida.

A polpa selecionada também apresentou padrões microbiológicos adequados ao desenvolvimento do suplemento para posterior consumo (Tabela 11).

**Tabela 11** Composição nutricional, fenólicos e antocianinas totais e atividade antioxidante do açaí liofilizado.

Parâmetro	Ud	Valor	Parâmetro	Ud	Valor
Umidade	g/100g	86,86	Fenilalanina	g/100g	0,065
Sólidos totais	g/100g	12,32	Ácido glutâmico	g/100g	0,12
*VET	Kcal/g	78,83	Metionina	g/100g	0,009
Carboidratos	g/100g	34,34	Histidina	g/100g	0,019
Fibras	g/100g	1,72	Isoleucina	g/100g	0,06
Lipídios	g/100g	6,30	Leucina	g/100g	0,09
Ácido linolênico	g/100g	0,77	Valina	g/100g	0,09
Ácido linoleico	g/100g	5,85	Cafeína	g/100g	9,90
Ácido oleico	g/100g	29,91	Vitamina A	U/L	0,73
Proteínas totais	g/100g	7,79	Vitamina E	mg/kg	15,95
Aminoácidos	g/100g	7,99	DPPH (EAG)	µg/mL	1,03
ACT	mg/g	7,10	ORAC (EAG)	µg/mL	3558

\*Valor energético (VET); Atividade antioxidante: Métodos DPPH e ORAC (em equivalentes de ácido gálico: EAG: µg/mL ); ACT (Antocianinas totais em mg/g).

## 7.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Para o desenvolvimento da bebida foi utilizado o planejamento fatorial fracionário  $2^{**}(4^{-1})$  com quatro componentes, o que totalizou oito ensaios (oito bebidas codificadas de B1 a B8). As concentrações dos principais ingredientes da bebida foram definidas como variáveis independentes do planejamento experimental e as interações entre essas variáveis foram relacionadas à variável de resposta (atividade antioxidante). O objetivo do delineamento experimental foi o de selecionar a bebida de maior atividade antioxidante entre as formulações elaboradas. Os pseudo-componentes foram: X1 = polpa de açaí liofilizado; X2 = glutamina; X3 = carboidratos e X4 = suco de lima ácida, cujas concentrações foram definidas de acordo com os limites mínimo e máximo para os ingredientes da bebida, com base na sua aceitação preliminar.

Para a construção do planejamento fatorial, segundo os componentes da mistura, foram utilizados para 100 mL de bebida, 15-25% de açúcares, 2-6% de açaí, 1-3% de glutamina, 5-15% de suco de lima ácida filtrado e 65-80% de água



mineral não gasosa. Os limites dos componentes foram codificados e calculados baseando-se nas restrições do planejamento fatorial selecionado e significância estatística entre os fatores (KHURI e CORNELL, 1987).

Na Tabela 12 está representada a matriz para o planejamento fatorial selecionado, com as variáveis independentes (componentes da bebida) delineadas para o ensaio.

**Tabela 12** Condições pré - estabelecidas dos principais componentes da bebida (variáveis independentes) como nível inferior (-) e superior (+)

Variáveis		-1	+1
X1	(g)	3	4
X2	(g)	2	2,5
X3	(g)	20	22
X4	(mL)	6	8

A atividade antioxidante das amostras foi analisada como a variável de resposta, com base no método ORAC (y1-ORAC). Os resultados do planejamento fatorial foram tratados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e regressão linear. Adicionalmente, os resultados também foram demonstrados por gráficos de superfície de resposta em relação à variável dependente e às interações de segunda ordem. A escolha da bebida foi determinada baseando-se na formulação que demonstrou o maior valor em unidades Trolox ( $\mu\text{g/mL}$ ) pelo método ORAC (atividade antioxidante). Posteriormente à seleção da bebida, foi realizada análise microbiológica para garantir qualidade sanitária mínima à bebida, para então, ser recomendada e consumida pelos atletas que participariam do ensaio clínico (piloto: corrida em campo a 70% do  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ ; controlado: teste com cargas contínuas em rampa a 90% do  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ ).

Na Tabela 13 está representada a matriz de planejamento para a variável dependente (VD) atividade antioxidante pelo método ORAC determinada para o padrão Trolox, entre as bebidas elaboradas, bem como as interações dos fatores no planejamento, com base nos limites inferior e superior dos ingredientes selecionados (+/-).

**Tabela 13** Matriz de planejamento  $2^{4-1}$  ORAC

Ensaio	1	2	3	4	12	13	14	23	24	34	123	234	12	[Resposta] ORAC $\mu\text{g.mL}$ equiv Trolox
1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	47,94 $\pm$ 4,0
2	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	35,64 $\pm$ 1,3
3	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	73,63 $\pm$ 11,6
4	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	70,01 $\pm$ 10,5
5	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	54,69 $\pm$ 3,9
6	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	28,23 $\pm$ 1,0
7	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	74,13 $\pm$ 3,9
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	68,24 $\pm$ 5,4

No planejamento estatístico da mistura o teste F (Tabela 14) não pode ser calculado, por não haver suficientes graus de liberdade para o cálculo da soma quadrática do erro, portanto, foram analisados os efeitos e coeficientes estimados para o experimento 1 demonstrados nas Tabela 15 e 16.

**Tabela 14** ANOVA do experimento 1, efeitos e interações; Var.: ORAC;  $R^2=1$  (bebida à base de açaí)  $2^{4-1}$ , desenho VD: ORAC  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (atividade antioxidante).

	SQ	GI	MQ	F	P
<b>(1) AÇAÍ</b>	1805,404	1	1805,404		
<b>(2) Gln</b>	0,198	1	0,198		
<b>(3) CHOs</b>	299,390	1	299,390		
<b>(4) Lima</b>	15,736	1	15,736		
<b>1 vs 2</b>	0,000	1	0,000		
<b>1 vs 3</b>	102, 102	1	102, 102		
<b>1 vs 4</b>	36,551	1	36,551		
<b>Erro</b>	0,00000	0			
<b>SQ Total</b>	2259,383	7			

Var-variável; VD- variável dependente; SQ- Soma quadrática; MQ- média quadrática; CHOs (carboidratos); gl- graus de liberdade. F e P= Significância estatística do modelo; vs=versus (interação dos fatores)

**Tabela 15** Efeitos e coeficientes estimados no experimento 1; Var. ORAC;  $R^2=0,93863$  (bebida à base de açaí)  $2^{**}(4-1)$  desenho; DV: ORAC  $\mu\text{g.mL}$ .

	<b>Efeito</b>	<b>Coeficiente</b>
<b>Média/Interc.</b>	90,86500	90,86500
<b>(1) Açaí</b>	-5,13000	-2,56500
<b>(2) Gln</b>	1,87000	0,93500
<b>(3) CHOs</b>	-0,21500	-0,10750
<b>(4) Lima</b>	1,14500	0,57250
<b>1 vs 2</b>	0,06000	0,03000
<b>1 vs 3</b>	0,69500	0,34750
<b>1 vs 4</b>	-0,33500	-0,16750

\* Interc-Intercepto

A análise dos resultados contidos na Tabela 14 e 15 mostrou que os quatro efeitos principais e os três efeitos de interação de segunda ordem, a saber: 1 vs 2, 1 vs 3 e 1 vs 4 não foram importantes. Pelo fato de não se ter réplicas dos pontos experimentais, não pode ser realizado teste estatístico e também não pode ser verificada a significância estatística dos efeitos e parâmetros de regressão, porém os coeficientes de regressão no experimento 1 foram analisados e são apresentados na Tabela 16.

**Tabela 16** Coeficientes de regressão no experimento 1; Var.: ORAC;  $R^2=1$ , (bebida à base de açaí)  $2^{**}(4-1)$  desenho; VD: ORAC  $\mu\text{g.mL}^{-1}$

	<b>Coeficientes de regressão</b>
<b>Média/Interc.</b>	56,6475
<b>(1)Açaí</b>	15,02250
<b>(2) Gln</b>	-0,15750
<b>(3) CHOs</b>	-6,11750
<b>(4)Lima</b>	1,40250
<b>1 vs 2</b>	0,00750
<b>1 vs 3</b>	3,57250
<b>1 vs 4</b>	-2,13750

Interc-intercepto.

O experimento 1, conforme demonstrado nas Tabelas 14,15,16 não apresentou um bom ajuste e, portanto, algumas interações de segunda ordem foram ignoradas no delineamento experimental, originando o experimento 2, entre eles, o fator principal Gln (glutamina) e a interação de primeira ordem 1 vs 2 pelas baixas médias quadráticas. Estes efeitos foram ignorados com o intuito de se melhorar o

ajuste do experimento. Nas Tabelas 17, 18 e 19 são apresentados os dados obtidos do planejamento estatístico para o experimento 2. Nesse modelo observou-se que o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) passou de 1 para 0,99991, e que o  $R^2$  ajustado ficou em 0,99969, demonstrando melhor ajuste do modelo para a resposta estudada (atividade antioxidante). Para analisar as diferenças entre as médias dos tratamentos foi utilizada análise de variância (ANOVA), sendo, portanto, verificada a mudança no coeficiente de determinação e a significância estatística dos fatores.

**Tabela 17** ANOVA modelo 2; Var.: ORAC;  $R^2=0,99991$ ; R Ajust: 0,99969 (bebida à base de açaí)  $2^{**}(4^{-1})$  desenho; MQ residual= 0,09945; VD: ORAC  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (atividade antioxidante)

Fator	SQ	GI	MQ	F	P
<b>(1) AÇAÍ</b>	1805,404	1	1805,404	18153,89	0,000055
<b>(3) CHOs</b>	299,390	1	299,390	3010,46	0,000332
<b>(4) Lima</b>	15,736	1	15,736	158,23	0,006261
<b>1 vs 3</b>	102, 102	1	102, 102	1026,67	0,000973
<b>1 vs 4</b>	36,551	1	36,551	367,53	0,002710
<b>Erro</b>	0,199	2	0,099		
<b>SQ total</b>	2259,383	7			

SQ=soma quadrática; R Ajust= R ajustado; MQ residual= Média quadrática residual

Tem-se que o  $R^2$  ajustado ( $R_{\text{ajust}} = \text{SQr} / \text{SQt}$ ) = SQr (Soma quadrática residual) / SQt (Soma quadrática total), onde  $R^2 = 0,99969$  e  $\text{SQt} = 2259,383$ ; logo, SQr é igual a 2259,383. A média quadrática (MQ) do erro puro (MQep) fornece uma medida do erro aleatório, ou seja, o erro inerente aos experimentos, que não é relacionado com o modelo ajustado. Verificou-se pelos dados obtidos na Tabela 17, que as interações açaí *versus* carboidratos e açaí *versus* lima foram relevantes e influenciaram na atividade antioxidante, em função do valor de P ( $p < 0,01$ ). Na Tabela 18, observou-se que os ingredientes açaí, carboidratos, suco de lima ácida e suas interações foram importantes no delineamento ( $p < 0,01$ ) e influenciaram a variável dependente (atividade antioxidante) determinada pelo método ORAC.

**Tabela 18** Coeficientes de regressão (Coef regres); Var: ORAC µg.mL (atividade antioxidante);  $R^2=0,99991$ ; R Ajust: 0,99969,  $2^{**}(4-1)$  desenho; MQ residual=0,09945; VD: ORAC µg.mL<sup>-1</sup> (atividade antioxidante).

Fator	Coef Regres	SE	t (2)	P	-95% Cnf Lim	+95% Cnf Lim
<b>Média/Interc.</b>	490,5600	17,46961	28,0808	0,001266	415,394	565,7257
<b>(1) AÇAÍ</b>	-90,0750	4,94115	-18,2296	0,002996	-111,336	-68,8149
<b>(3) CHOs</b>	-31,1250	0,78839	-39,4791	0,000641	-34,517	-27,7326
<b>(4) Lima</b>	16,3650	0,78839	20,7574	0,002313	12,973	19,7572
<b>1 vs 3</b>	7,1450	0,22299	32,0416	0,000973	6,186	8,1045
<b>1 vs 4</b>	-4,2750	0,22299	-19,1712	0,002710	-5,234	-3,3155

R Ajust= R ajustado; SE- erro padrão; Cnf lim- intervalo de confiança.

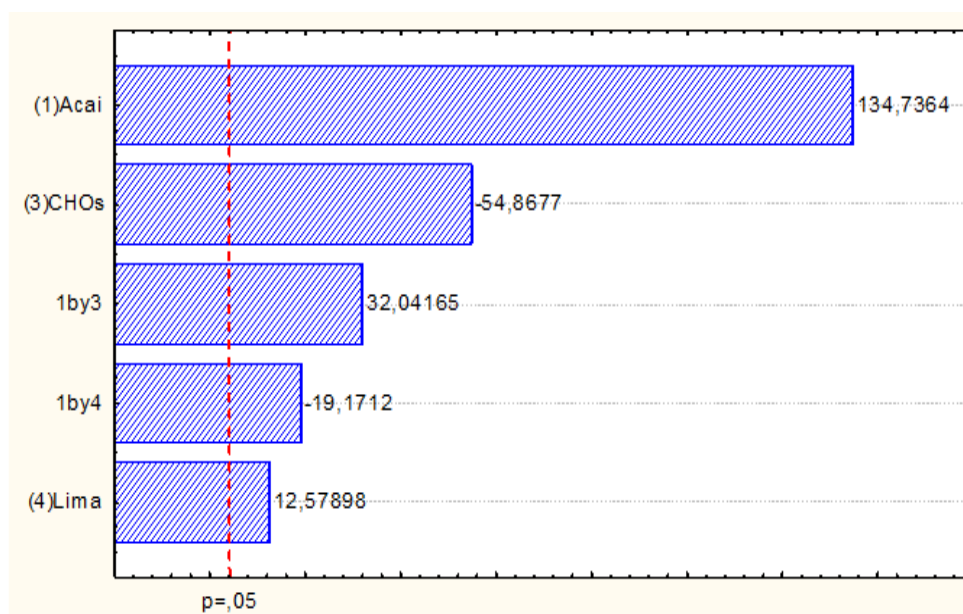
Na Tabela 19 observou-se que os efeitos principais e os de interação foram significativos ( $p<0,01$ ). Os efeitos importantes foram inseridos no modelo de regressão linear com variáveis escalonadas, onde: ORAC (atividade antioxidante)=  $56,65125 + 15,02625$  Açaí +  $1,39875$  Lima + € para  $p<0,01$ ; ORAC (atividade antioxidante) =  $56,65125 + 15,02625$  Açaí –  $6,12125$  CHOs +  $3,56875$  Açaí.lima + € para  $p<0,01$ , onde os ingredientes açaí e lima contribuíram positivamente para a atividade antioxidante (ORAC) quando comparados aos carboidratos (Tabela 19).

**Tabela 19** Efeitos estimados e interações no experimento 2; Var. ORAC: atividade antioxidante;  $R^2= 0,99992$ ; R Ajust: 0,99971 (bebida açaí);  $2^{**}(4-1)$  desenho; MQ Residual =0,0950625; VD:ORAC µg.mL<sup>-1</sup> (atividade antioxidante).

Fator	Efeito	SE	t (2)	P	-95% Cnf lim	+95% Cnf lim	SE Coef	95% Cnf lim
<b>Média/interc</b>	56,6512	0,10906	519,6966	0,000004	56,1822	57,1203	0,109008	57,12027
<b>(1) Açaí</b>	30,0525	0,218017	137,845	0,000053	29,1145	30,9905	0,109008	15,49527
<b>(3) CHOs</b>	-12,2425	0,218017	-56,154	0,000317	-13,1805	-11,3045	0,109008	-5,65223
<b>(4) Lima</b>	2,7975	0,218017	12,8316	0,006019	1,8595	3,7355	0,109008	1,86777
<b>1 vs 3</b>	7,1375	0,218017	32,7383	0,000932	6,1995	8,0755	0,109008	4,03777
<b>1 vs 4</b>	-4,2825	0,218017	-19,643	0,002582	-5,2205	-3,3445	0,109008	-1,67223

Interc-Intercepto; SE-erro padrão; Cnf lim-intervalo de confiança; Coef- coeficiente.

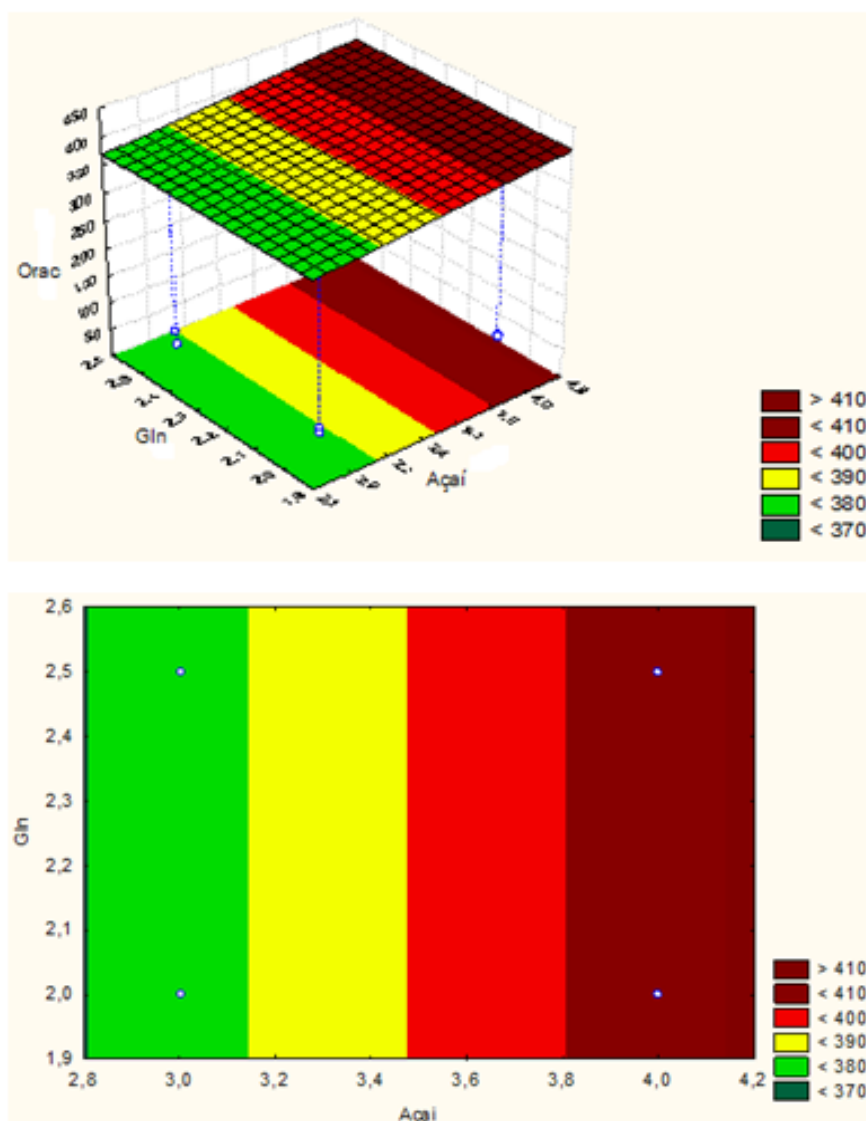
Na Figura 28, os dados obtidos do experimento são representados no diagrama de Pareto (MQres=0,09945), em função dos valores gerados pelo teste *t* de *Student*.



**Figura 28** Diagrama de Pareto.

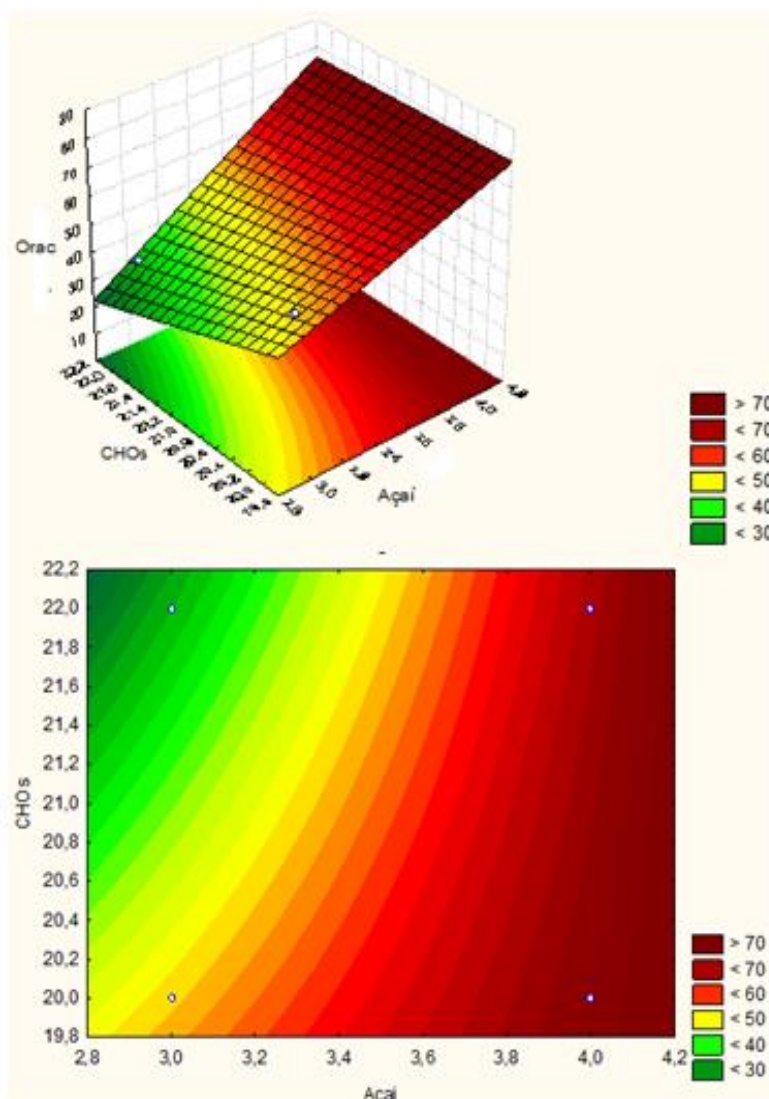
Segundo o diagrama de Pareto, os valores apresentados ao lado da barra representam os resultados do Teste *t* de *Student*, obtidos através dos efeitos principais e os de interação no experimento 2 (Figura 28). As barras dos efeitos principais e de interação encontraram-se à direita da linha tracejada em vermelho e indicaram que foram estatisticamente significativos. Segundo o diagrama, o efeito dos carboidratos e a interação açaí vs lima influenciaram negativamente na atividade antioxidante ( $p < 0,05$ ).

Os gráficos de superfície de resposta e de curvas de nível ou de contorno ilustraram modelos para visualização da máxima atividade antioxidante, baseado na análise de regressão em termos das variáveis escalonadas. Os gráficos demonstram a tendência de influência das variáveis independentes na variável de resposta, com vistas a se otimizar a resposta desejada pelo estudo. Ao longo de cada linha do gráfico tem-se o mesmo valor da variável de resposta e quando as linhas são paralelas o efeito de interação não é importante no modelo (CALADO; MONTGOMERY, 2003).



**Figura 29** Superfície de resposta e de curvas de nível para a variáveis independentes glutamina (Gln) e açai.

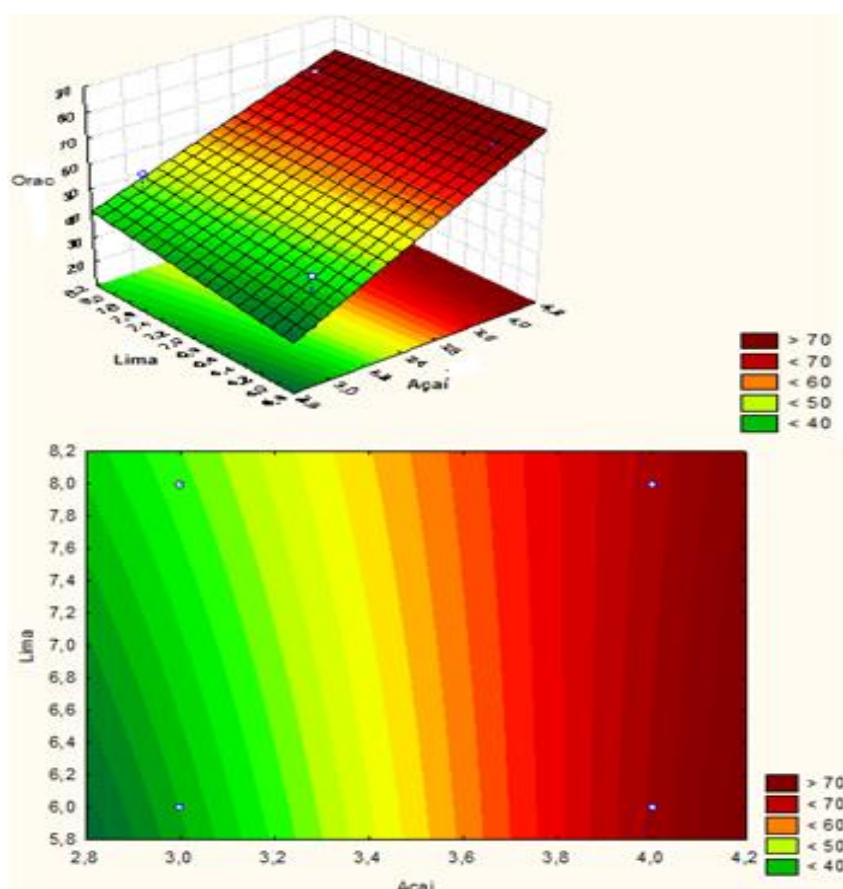
Como demonstrado na Figura 29, as linhas do gráfico de superfície de resposta foram paralelas, ou seja, não houve curvatura entre as linhas de contorno. Portanto, o efeito de interação entre as variáveis independentes glutamina e açai não foi importante e deste modo, não influenciou na variável de resposta (atividade antioxidante).



**Figura 30** Superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes carboidratos (CHOs) e açai.

Na Figura 30 estão ilustrados os gráficos de superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes carboidratos e açai. Foi observada relação inversa entre os efeitos na variável de resposta, ou seja, quanto maior a concentração de açai, maior foi a atividade antioxidante, já que níveis mais elevados no gráfico representam maior influência na variável de resposta. Contudo, observou-se que os carboidratos influenciaram negativamente o modelo e as curvaturas observadas no gráfico de contorno mostraram importante interação dos efeitos.

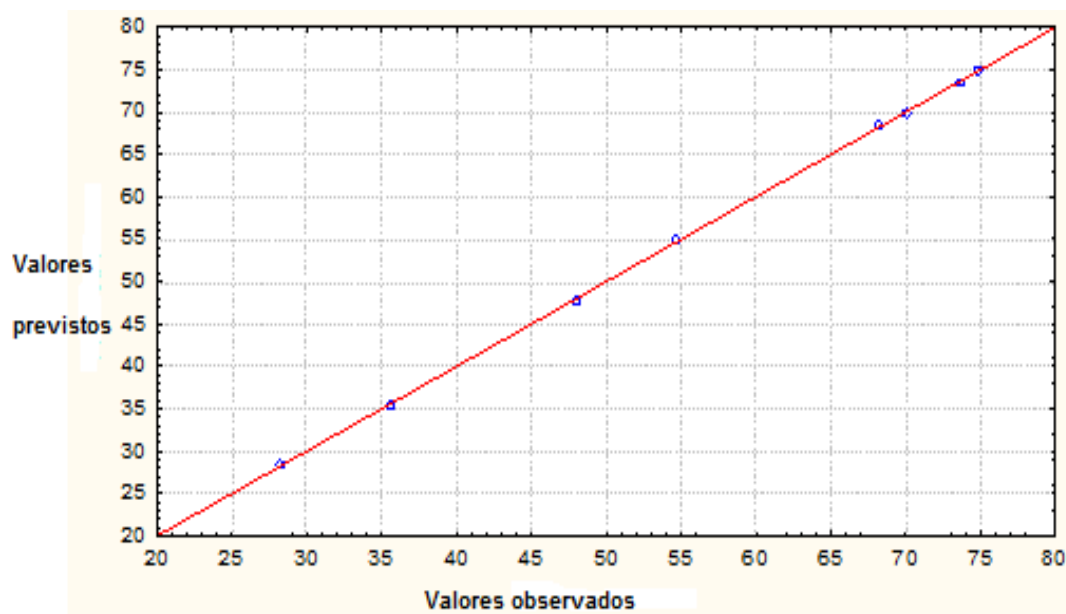




**Figura 31** Superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes suco de lima ácida e açaí

Na Figura 31, os gráficos de superfície de resposta e de curvas de nível para as variáveis independentes lima e açaí também demonstraram efeitos de interação, porém o açaí exerceu maior influência na variável de resposta (atividade antioxidante), do que o suco de lima ácida, observada pela elevação do plano e pelas curvaturas no gráfico de contorno. Contudo, os efeitos interagiram positivamente na variável de resposta.

Na Figura 32, está representado o diagrama dos valores previstos e observados no modelo estudado.



**Figura 32** Diagrama de valores observados *versus* valores previstos no modelo 2

Na Figura 32 observou-se que os resíduos apresentaram distribuição normal, pela proximidade dos pontos residuais à linha da reta, demonstrando que não houve tendência de perda de linearidade no modelo e que os desvios-padrão das variáveis foram menores, caracterizando bom ajuste do modelo 2. Os pontos experimentais (95% dos resíduos) ficaram próximos da linha contínua e, portanto, se tornou válida a suposição de normalidade dos resíduos já que estes seguiram uma distribuição normal.

## 7.6 BEBIDA À BASE DE AÇAÍ: ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS MICROBIOLÓGICAS E DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A partir do planejamento fatorial adotado, oito formulações foram elaboradas para a seleção da bebida de maior atividade antioxidante e conteúdo fitoquímico (concentração de fenólicos e antocianinas totais), para o consumo posterior pelos atletas. Após a seleção da bebida, esta passou por análises, quanto ao seu conteúdo nutricional, químico e microbiológico.

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados da concentração de fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos ORAC e DPPH das oito bebidas formuladas.

**Tabela 20** Conteúdo de Fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas pelos métodos ORAC e DPPH.

Bebidas	Fenólicos totais $\mu\text{g.mL}^{-1}$ EAG	DPPH $\mu\text{g.mL}^{-1}$ EAG	ORAC $\mu\text{g.mL}^{-1}$ EAG
B1	153,79	13,71	293,5
B2	172,93	6,01	288,5
B3	200,09	6,24	297,1
B4	261,2	7,23	443,7
B5	215,83	4,09	344,2
B6	228,49	7,05	365,0
B7	289,9	9,57	464,1
B8	229,72	2,36	356,3

\* Dados representados como média das determinações em triplicata. Formulações obtidas a partir de planejamento fatorial fracionário (n=8, B1-B8); \*EAG: equivalentes em ácido gálico. As bebidas apresentaram uma concentração média em equivalentes de ácido gálico de  $356,55 \pm 67,11 \mu\text{g/mL}$ .

A Tabela 21 contém os resultados de conteúdo nutricional, análise microbiológica e atividade antioxidante da bebida selecionada (B7). Segundo os resultados obtidos, observou-se que a bebida apresentou bom conteúdo de macronutrientes, micronutrientes e perfil de aminoácidos, além de boa atividade antioxidante.

A bebida demonstrou estar balanceada nutricionalmente e com conteúdo de carboidratos adequado segundo o que se define na Legislação de alimentos para atletas, classificando o suplemento como energético (BRASIL, 2010), Ademais, a bebida apresentou boa capacidade antioxidante e adequada qualidade microbiológica para ser consumida durante o estudo clínico.

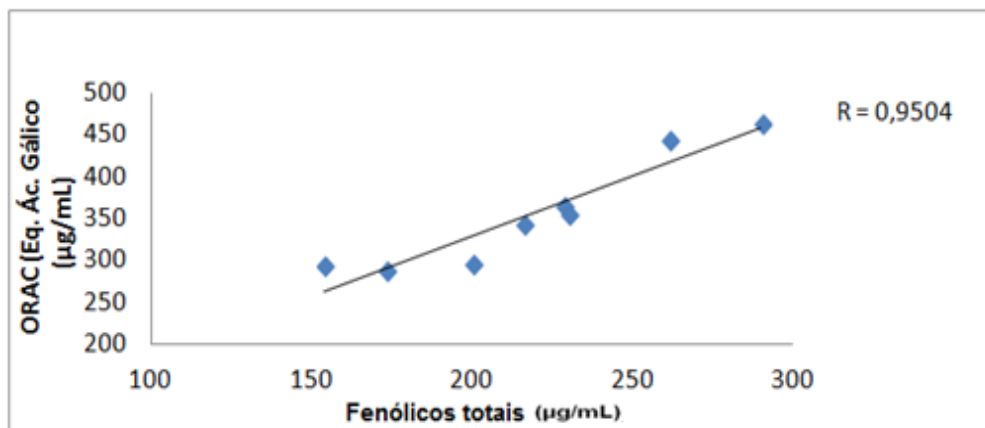
**Tabela 21** Conteúdo nutricional, pH, fenólicos e antocianinas totais, atividade antioxidante, estabilidade oxidativa e qualidade microbiológica da bebida selecionada.

Parâmetro	Ud	Valor	Parâmetro	Ud	Valor
<b>Fenólicos totais</b>	µg.mL <sup>-1</sup> EAG	289,9	<b>Umidade e Voláteis</b>	%	79,27
<b>Antocianinas totais</b>	mg.100mL <sup>-1</sup>	9,44	<b>Lipídios: extrato etéreo</b>	g/100g	1,12
<b>DPPH µg.mL<sup>-1</sup></b>	µg.mL <sup>-1</sup> EAG	9,57	<b>Kcal/ 100 mL</b>	g/100g	*72,6; *134,16
<b>ORAC-FL</b>	µg.mL <sup>-1</sup> EAG	464,1	<b>pH em solução aquosa</b>	–	3,57
<b>ORAC-FL</b>	µg.mL <sup>-1</sup> Trolox	74,13	<b>Matéria mineral</b>	g/100g	0,13
<b>Estabilidade oxidativas</b>	Dias	>267	<b>Frutose</b>	g/100g	2,5
<b>Coliformes totais</b>	UFC.g <sup>-1</sup>	<10,0	<b>Glicídios totais; *Fibras</b>	g/100g	13; 1,35
<b>*E. coli</b>	UFC.g <sup>-1</sup>	<10	<b>Sódio</b>	mg/100g	9,75
<b>Salmonella sp</b>	*Aus 25g	Ausente	<b>Ferro</b>	mg/100g	1,86
<b>Bolores e leveduras</b>	UFC.g <sup>-1</sup>	<10,0	<b>Vitamina E</b>	mg/Kg	57,54
<b>Cistina</b>	mg/100 g	13,55	<b>Vitamina C</b>	mg/Kg	< 10 mg
<b>Metionina</b>	mg/100 g	2,69	<b>Proteína Bruta</b>	g/100g	2,63
<b>Fenilalanina</b>	mg/100 g	15,26	<b>Alanina</b>	mg/100g	15,78
<b>Tirosina</b>	mg/100 g	14,76	<b>Arginina</b>	mg/100g	12,52
<b>Treonina</b>	mg/100 g	13,7	<b>Ac. aspártico</b>	mg/100g	37,86
<b>Prolina</b>	mg/100 g	16,7	<b>Glicina</b>	mg/100g	11,87
<b>Valina</b>	mg/100 g	18,68	<b>Isoleucina</b>	mg/100g	13,89
<b>Histidina</b>	mg/100 g	5,79	<b>Leucina</b>	mg/100g	21,6
<b>Serina</b>	mg/100 g	14,56	<b>Ác glutâmico</b>	mg/100g	2043,14
<b>Soma aminoácidos</b>	g/100g	2,29	<b>Lisina</b>	mg/100g	19

EAG-equivalentes em ácido gálico; Aus: ausência; VET- valor energético (Kcal): 1= 72,6 / 2= 134,2; \*Fibra alimentar; *E. coli*: *Escherichia coli*.

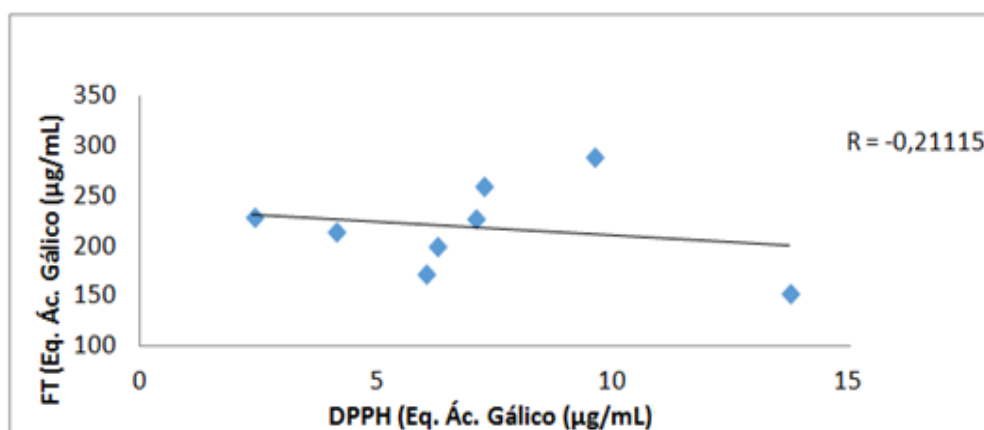
Um dado interessante na Tabela 21 foi o referente à estabilidade oxidativa, que sugeriu baixo potencial para à oxidação do suplemento ao longo do tempo (estimado em 267 dias), o que torna o resultado importante para a indústria de bebidas no que se refere à vida de prateleira.

A partir dos resultados de atividade antioxidante descritos na Tabela 20, foi selecionada a bebida número 7 que apresentou conteúdo médio em fenólicos totais e a maior atividade antioxidante segundo método ORAC. No Gráfico 5 está representada a correlação entre os resultados das análises das bebidas elaboradas pelos métodos ORAC e conteúdo de fenólicos totais.



**Gráfico 5** Correlação das médias da atividade antioxidante pelo método ORAC e Fenólicos totais nas bebidas formuladas (n=8).

No Gráfico 5 foi observado que a maior concentração de Fenólicos totais das bebidas mostrou boa correlação com o método ORAC ( $r=0,9504$ ), quando comparada ao método do DPPH (Gráfico 6), que apresentou correlação negativa ( $r = -0,211115$ ).



**Gráfico 6** Correlação das médias da atividade antioxidante pelo método DPPH e Fenólicos totais das bebidas formuladas (n=8).

Os resultados de atividade antioxidante obtidos a partir do método ORAC (padrão ácido gálico e Trolox) nas bebidas foram tratados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e regressão linear (Tabelas 22 e 23).

**Tabela 22** Análise de variância e regressão linear do experimento para variável ORAC\* nas bebidas (n=8).

Fator	MQ	gl	MQ	F	P
(1) Var 1 (L)	1860,176	1	1860,176	591,6567	0,00000
Erro de ajuste	17,795	5	3,559	1,132	0,388569
Erro puro	44,016	14	3,144		
MQ total	1921,987	20			

Fator	Coef Regres	SE	t (14)	P	-95% Cnf Lim	+95% Cnf Lim
Média/intercepto	11,44928	0,808037	14,16926	0,00000	9,716218	13,1824
(1) Var (1)	1,56861	0,064488	24,32399	0,00000	1,4303	1,70693

Análise de variância ( $R^2= 0,96784$ ;  $R_{ajust}= 0,96615$ ); Regressão linear (Coef Regr.  $R^2= 0,96784$ ;  $R_{ajust}= 0,96615$ ); 1 fator, 1 bloco, 21 corridas. SE-erro padrão; MQ-média quadrática; VD: ORAC\* (padrão ácido gálico).

**Tabela 23** Análise de variância e regressão linear no experimento para variável ORAC\*\* nas bebidas (n=8).

Fator	MQ	gl	MQ	F	P
(1) Var 1 (L)	822,0786	1	822,0786	1916,890	0,00000
Erro de ajuste	6,7126	5	1,3425	3,130	0,041987
Erro puro	6,0040	14	0,4289		
MQ total	834,7953	20			

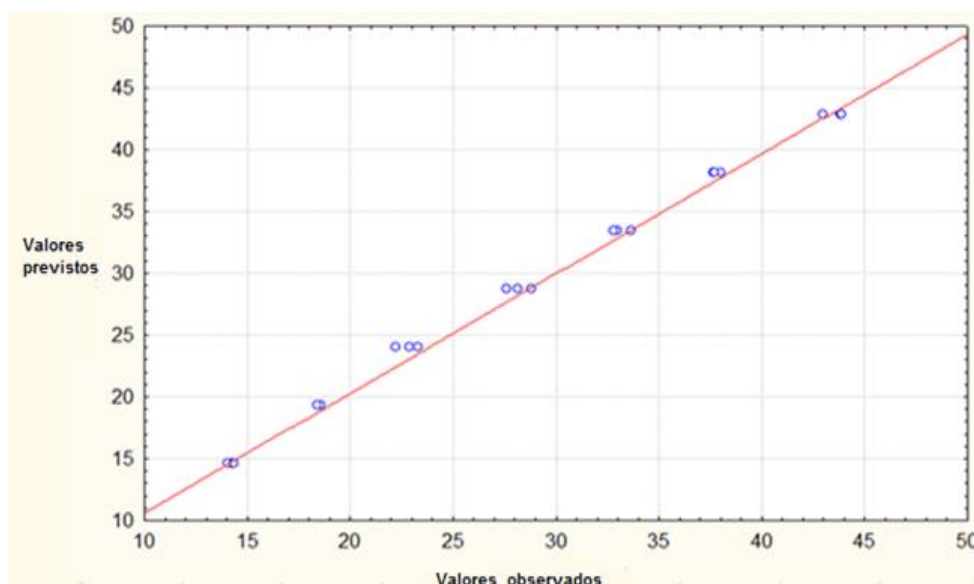
  

Fator	Coef Regres	SE	t (14)	P	-95% Cnf Lim	+95% Cnf Lim
Média/intercepto	12,67628	0,298433	42,47610	0,00000	12,03620	13,31635
(1) Var (1)	0,20856	0,004764	43,78231	0,00000	0,19834	0,21877

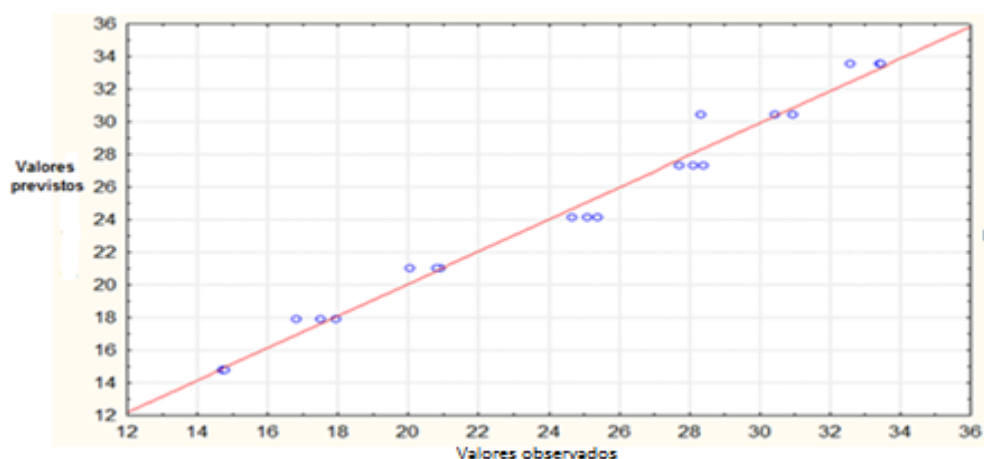
Análise de variância ( $R^2= 0,98477$ ;  $R_{ajust}= 0,98396$ ); Regressão linear (Coef Regr.  $R^2= 0,98477$ ;  $R_{ajust}= 0,98396$ ); 1 fator, 1 bloco, 21 corridas. SE-erro padrão; MQ-média quadrática; VD: ORAC\*\* (padrão Trolox).

Os resultados apresentados nas Tabelas 22 e 23 demonstraram boa qualidade dos dados experimentais, em função da pequena dispersão entre os valores e pelos coeficientes de determinação observados para análise do ORAC ( $R^2= 0,96784$  e  $0,98477$ ; Apêndices G e H), o que é corroborado pelos diagramas de valores previstos e observados (Figura 33a e 33b), segundo as faixas dos valores experimentais. Na Figura 33a e 33b, os desvios padrões dos parâmetros estudados no experimento foram menores que os dados obtidos e ficaram assim

próximos da linha reta, caracterizando um bom ajuste e normalidade para os resíduos.



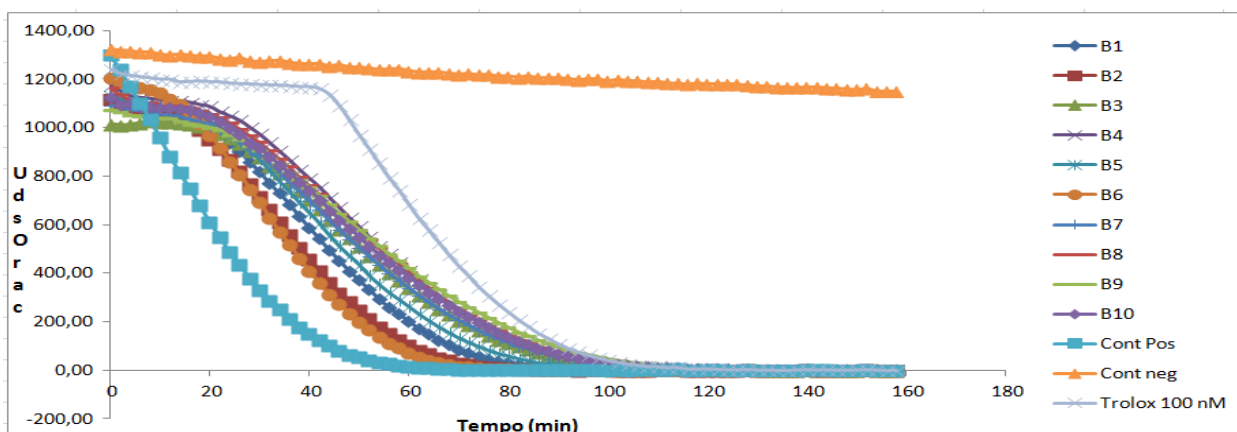
**Figura 33a** Valores previstos *versus* observados para análise das bebidas (n=8). Variável dependente ORAC (padrão ácido gálico). Dados tratados como ANOVA. Desvio padrão dos parâmetros estudados dentro das faixas experimentais.



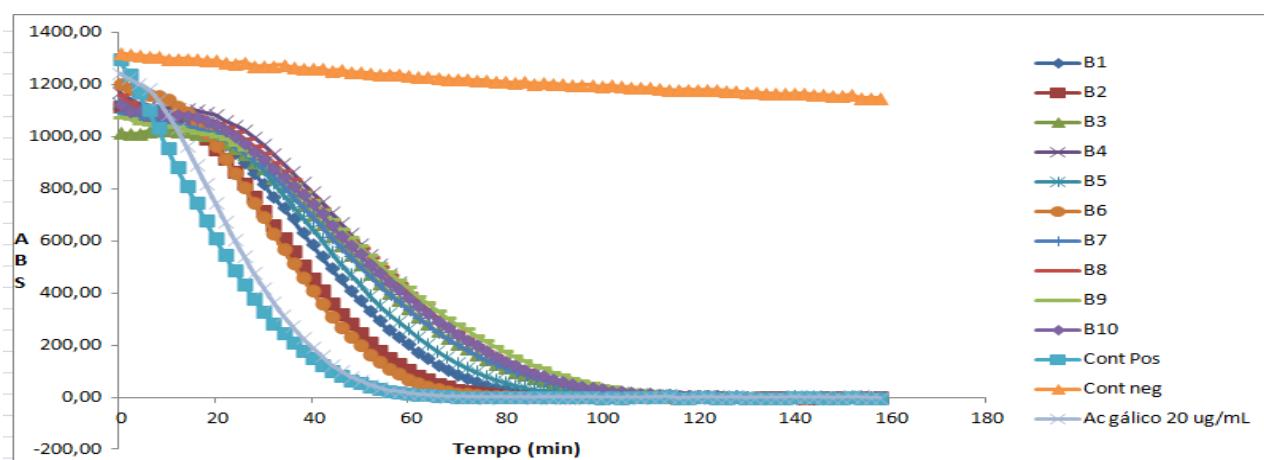
**Figura 33b** Valores previstos *versus* observados para análise das bebidas (n=8). Variável dependente ORAC (padrão Trolox). Dados tratados como ANOVA. Desvios padrão dos parâmetros estudados dentro das faixas experimentais.

Baseado no método ORAC-fluoresceína (DÁVALOS, GOMEZ-CORDOVÉS, BEGOÑA, 2004) foi demonstrado o comportamento cinético das amostras na presença de controle negativo (fluoresceína), positivo (AAPH) e padrões (Trolox e Ácido gálico) (Gráficos 7, 8 e 9). Os valores relativos de ORAC-FL para os padrões

Trolox e Ácido gálico estão descritos na Tabelas 25. O decaimento da fluorescência em função do tempo está representado nos Gráficos 7 e 8, respectivamente para os padrões Trolox (100nM) e Ácido gálico (20 µg/mL). Foram também calculadas as áreas líquidas sob a curva (AUC) para as bebidas estudadas (AUC amostra – AUC branco). As bebidas B9 e B10 também foram incluídas na análise para avaliar se conservantes (sorbato de potássio e ácido cítrico) prejudicariam a atividade antioxidante das bebidas e também para fins de patente. As amostras B9 e B10 possuíam as mesmas concentrações dos ingredientes da Bebida 7 (B7).



**Gráfico 7** Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo (160 min) para o padrão Trolox e área sob a curva (AUC) na presença das amostras de bebidas, padrão e controles negativo e positivo. Trolox ( $c_i=100 \text{ } \eta\text{M}$ ,  $c_f=10 \text{ } \eta\text{M}$ ); reação da fluoresceína ( $v_i=11,2 \mu\text{L}/120 \mu\text{L}$ ) com o AAPH ( $v_i=10,8 \mu\text{L}/60 \mu\text{L}$ ), oxidante e controle positivo (fluoresceína = 120  $\mu\text{L}$  + AAPH = 60  $\mu\text{L}$  + tampão fosfato = 20  $\mu\text{L}$ ); na ausência de amostra e AAPH (controle negativo: fluoresceína: 120  $\mu\text{L}$  + tampão fosfato 80  $\mu\text{L}$ ); branco (200  $\mu\text{L}$ : tampão fosfato,  $\text{pH}=7,4$ ) e para as amostras das bebidas em análise (1:500- solução de fluoresceína: 120  $\mu\text{L}$  + amostra: 60  $\mu\text{L}$  + tampão = 20  $\mu\text{L}$ ).



**Gráfico 8** Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo (160 min), para o padrão ácido gálico ( $c_i = 20 \mu\text{g} / \text{mL}$ ,  $c_f = 2,0 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) e área sob a curva (AUC), na presença das amostras de bebidas (1: 500), padrão e controles positivo e negativo.



Como verificado nos Gráficos 7 e 8, a linearidade entre a AUC para cada padrão e amostras testadas demonstrou que todas ficaram dentro da faixa de linearidade dos controles, observado pelo decaimento das curvas. O comportamento cinético da fluoresceína/sistema AAPH na presença das diversas amostras, a partir de 50 minutos demonstrou ter sido mais rápido se comparado às bebidas, cujo comportamento cinético foi mais lento no experimento, principalmente quando observamos o comportamento cinético da curva do padrão ácido gálico (Gráficos 8).

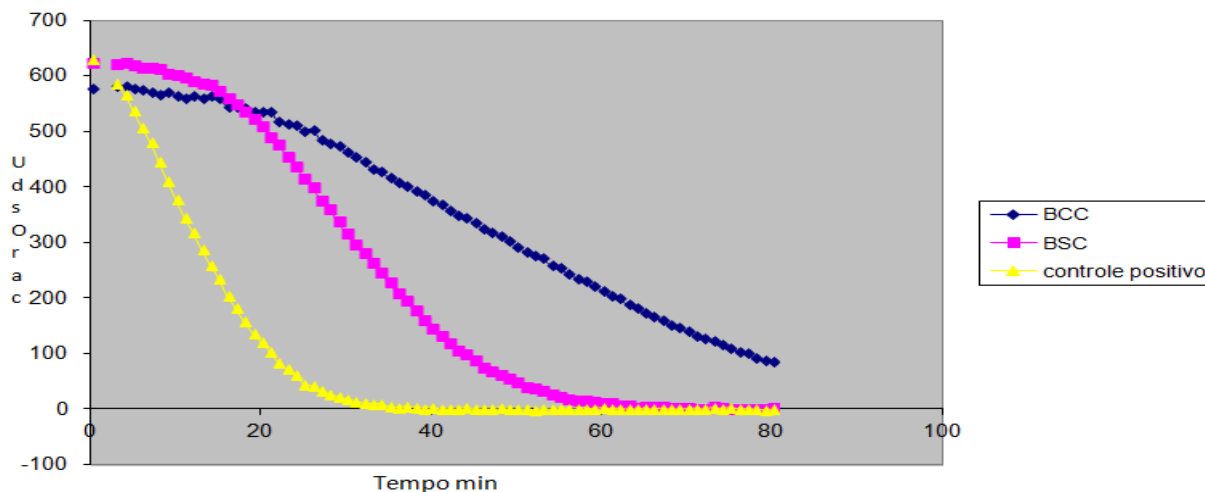
Os valores médios encontrados para as bebidas analisadas em triplicata (padrão Trolox) foram de  $55,58 \pm 17,48 \mu\text{g/mL}$  e  $24,27 \pm 3,65$  uds ORAC, enquanto o valor da bebida selecionada (B7) foi de  $74,13 \pm 2,59 \mu\text{g/mL}$  e  $28,14 \pm 0,54$  uds de ORAC. Para o padrão ácido gálico a média das bebidas foi de  $8,33 \pm 2,41 \mu\text{g/mL}$ , enquanto a bebida selecionada apresentou valor de  $10,88 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$  (Tabela 24).

**Tabela 24** Valores relativos de ORAC-FL nas bebidas (n=8), segundo padrão Trolox e Ácido gálico.

Amostra	ORAC (uds)	*Equiv Trolox $\mu\text{g/mL}$	*Equiv Ác. Gálico $\mu\text{g/mL}$
B1	$22,67 \pm 0,83$	$47,94 \pm 4,0$	$7,16 \pm 0,53$
B2	$20,11 \pm 0,28$	$35,64 \pm 1,35$	$5,52 \pm 0,18$
B3	$28,03 \pm 2,41$	$73,64 \pm 11,56$	$10,57 \pm 1,54$
B4	$27,28 \pm 2,18$	$70,01 \pm 10,47$	$10,09 \pm 1,39$
B5	$24,08 \pm 0,81$	$54,69 \pm 24,08$	$8,05 \pm 0,52$
B6	$18,56 \pm 0,21$	$28,23 \pm 1,04$	$4,54 \pm 0,14$
*B7	* $28,14 \pm 0,38$	* $74,13 \pm 2,59$	* $10,88 \pm 0,24$
B8	$26,91 \pm 1,13$	$68,24 \pm 5,43$	$9,86 \pm 0,76$

\*Equiv: equivalentes. \* B7: bebida selecionada de maior atividade antioxidante.

A atividade antioxidante das bebidas com e sem conservante (BCC e BSC: 1: 200), foi também analisada e observou-se decaimento da curva mais lento para bebida com conservante (BCC) em relação ao controle positivo e a BSC. A média dos valores da BSC e BCC, segundo padrão Trolox foi de  $51,58 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$ .



**Gráfico 9** Análise do ORAC-FL segundo decaimento da fluorescência em função do tempo para o padrão Trolox ( $c_i = 80 \text{ } \eta\text{M}$ ,  $c_f = 8 \text{ } \eta\text{M}$ ) e área sob a curva (AUC), na presença das amostras BSC / BCC e controle positivo (padrão Trolox).

## 7.7 ANÁLISE SENSORIAL

### 7.7.1 Teste de aceitação 1

Para o teste de aceitação preliminar (Teste 1) foi utilizada escala hedônica de nove pontos para os atributos cor e sabor, que foram julgados por consumidores comuns não treinados, entre os atletas que realizariam o ensaio clínico, participantes da Feira da FAPERJ (outubro/2011) e alunos/funcionários da Faculdade de Farmácia ( $n=101$ ). Segundo análise descritiva (Tabela 25) verificou-se que grande parte dos degustadores atribuiu notas de 8 a 9, referente à escala hedônica de nove pontos (Apêndice B). Em relação ao sabor dois provadores ( $n=2$ ) referiram desgostar regularmente (3,3%, nota 3) e sete ligeiramente ( $n=7$ , 11,6%, nota 4), enquanto 3,3% dos indivíduos foram indiferentes ao sabor ( $n=2$ , nota 5) e 6,6% gostaram ligeiramente ( $n=4$ , nota 6).

Por outro lado, 40% dos provadores ( $n=24$ , nota 8) gostaram muito da bebida e 35% dos provadores gostaram muitíssimo ( $n=21$ , nota 9). Portanto, para o Teste 1 de aceitação preliminar, segundo o atributo sabor, 72,6% dos degustadores aprovaram a bebida energética à base de açaí, enquanto 24,2% ficaram entre indiferentes ou desgostaram ou gostaram ligeiramente da bebida. Os indivíduos julgaram também quanto a cor do suplemento ( $n=39$ ) e houve 79,5% de aprovação.

O teste correspondeu às seguintes notas: 3-desgostei regularmente ( $n=2$ , 5,4%); 5-indiferente ( $n=2$ , 5,4%); 6-gostei ligeiramente ( $n=4$ , 10,8%), 8-gostei muito

(n=17, 45,9%); 9-gostei muitíssimo (n=14, 37,8%). Na Tabela 25 são apresentados os resultados da aceitação e ressaltados os atributos de melhor aceitação.

**Tabela 25** Resultados para o Teste de aceitação preliminar (Teste 1, n=101)

*Nota	Atributo Cor	n=39	%	Atributo Sabor	n=62	%
1	Desgostei muitíssimo	---	---	Desgostei muitíssimo	---	---
2	Desgostei muito	---	---	Desgostei muito	---	---
3	Desgostei regulamente	2	5,4	Desgostei regulamente	2	3,3
4	Desgostei ligeiramente	---	---	Desgostei ligeiramente	7	11,6
5	Indiferente	2	5,4	Indiferente	2	3,3
6	Gostei ligeiramente	4	10,8	Gostei ligeiramente	4	6,6
7	Gostei regulamente	---	---	Gostei regulamente	---	---
8	Gostei muito	17	45,9	Gostei muito	24	40
9	Gostei muitíssimo	14	37,8	Gostei muitíssimo	21	35

\* Teste de aceitação com Escala hedônica de nove pontos.

### 7.7.2 Teste de Aceitação 2

O segundo Teste de aceitação foi realizado para confirmar a aceitabilidade entre os prováveis consumidores e também com o propósito de relacionar as propriedades nutritivas e biocênticas da bebida à aceitação positiva entre os degustadores, com vistas à possível comercialização do suplemento.

As bebidas energéticas à base de açaí adicionadas de conservantes (BCC-ácido cítrico + sorbato de potássio) e sem a adição de conservantes (BSC), foram comparadas com dois produtos comerciais sabor açaí (BMA: suplemento maltodextrina, sabor açaí para atletas) e BAZ (suco açaí comercial).

As bebidas de açaí foram codificadas, conforme observado na Figura 34, e apresentavam cor similar aos produtos comerciais à base de açaí.



**Figura 34** Bebidas consumidas no teste de aceitação 2 e codificadas com a numeração 331,111, 341 e 221.

Trinta e cinco atletas (n=35) do Núcleo Olímpico do Projeto Lançar-se para o Futuro (RJ), com idade entre 19 a 24 anos, entenderam os procedimentos do estudo de aceitação e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido aprovado pelo CEP/UFRJ (Protocolo 112/10) (Apêndice A). Os atletas (Figura 35) julgaram a aceitação das quatro amostras, em relação aos atributos sensoriais impressão global (aroma, textura e sabor), doçura e acidez, através do instrumento de escala hedônica de nove pontos (Apêndice C; Figuras 36a e 36b).



**Figura 35** Velocistas do Núcleo Olímpico Projeto lançar-se para o Futuro/RJ

Cada provador recebeu 30 mL de cada uma das amostras de forma monádica, codificadas, procedendo ao teste em cabines individuais adaptadas para o teste, sob luz natural, como demonstrado nas Figuras 36a e 36b.



**Figura 36a** Procedimentos da análise sensorial e realização do teste de aceitação entre os velocistas (n=35).



**Figura 36b** Procedimentos do teste de aceitação entre os voluntários.

Os resultados do teste de aceitação foram analisados descritivamente e para a análise estatística dos dados foi utilizada análise de variância (Teste de

ANOVA/*Tukey*), com significância de 95% ( $p \leq 0,05$ ). O objetivo da análise foi o de comparar a aceitação entre as amostras, a partir das notas atribuídas às bebidas. Na Tabela 26 estão apresentados os resultados das notas atribuídas para as características sensoriais tais como: impressão global (sabor, aroma, apresentação), doçura e acidez, a partir de escala hedônica de nove pontos.

**Tabela 26** Aceitação da bebida energética a base de açaí para os escores impressão global, doçura e acidez.

Amostras	Impressão Global	Doçura	Acidez
BAZ	7,09 <sup>a</sup>	7,09 <sup>a</sup>	6,72 <sup>a</sup>
BMA	4,94 <sup>b</sup>	4,72 <sup>b</sup>	4,22 <sup>c</sup>
BSC	6,44 <sup>a</sup>	6,59 <sup>a</sup>	5,94 <sup>ab</sup>
BCC	6,38 <sup>a</sup>	6,31 <sup>a</sup>	5,31 <sup>bc</sup>
MDS	1,416	1,373	1,401

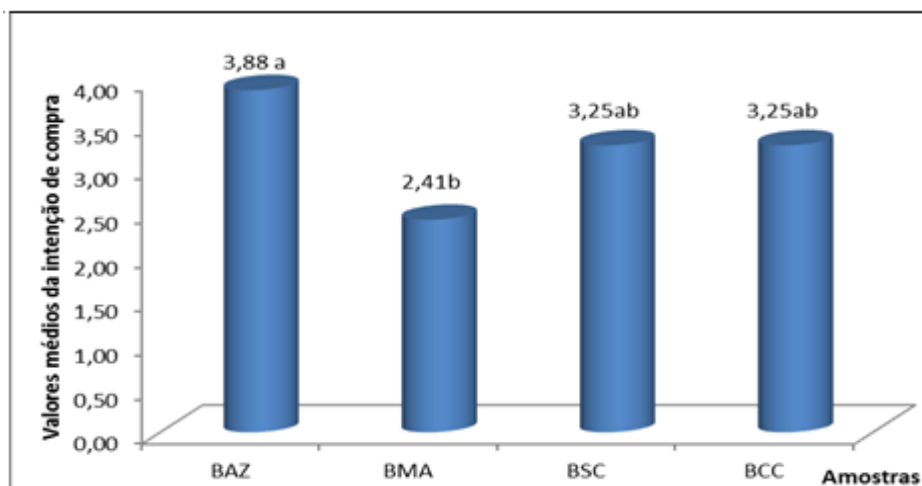
BAZ- bebida comercial de açaí; \*BMA- bebida com maltodextrina e açaí para atletas.

BSC- bebida a base de açaí sem conservante e BCC- com conservante; Teste Anova/*Tukey* MDS: médias das diferenças. <sup>a</sup> Sem diferença significativa, <sup>ab bc</sup> Diferença significativa.

Os resultados para a análise sensorial demonstraram que de uma forma geral, tanto na impressão/aceitação global, quanto doçura, a bebida energética foi aceita pelos atletas, com escores médios maiores que 6,3 (intensidade de gostar ligeiramente a moderadamente). Contudo, esta aceitação foi menor do que a apresentada para a amostra comercial (BAZ), que obteve escores médios de 7,09, porém sem diferença significativa entre elas ( $p \leq 0,05$ ). Por outro lado, os atletas consideraram a bebida energética melhor do que a amostra comercial BMA, a qual não foi aceita, apresentando médias inferiores a 5,0, diferindo significativamente das demais ( $p < 0,05$ ). A acidez das amostras fez com que os valores médios fossem menores, variando entre 4,2 a 6,7, no entanto, as amostras BSC e BCC, mantiveram o mesmo comportamento na aceitação, porém a BCC se aproximou da BMA e se distanciou da BAZ significativamente.

Assim sendo, a bebida energética apresentou características que agradaram aos atletas. Neste estudo também foi analisada a intenção de compra da bebida, cujas notas atribuídas ao julgamento variaram de 1 a 5 (1: certamente não compraria, 2: possivelmente não compraria, 3: talvez comprasse, 4: possivelmente compraria e 5: certamente compraria).

Os resultados para o teste sugeriram que a bebida à base de açaí pode ser considerada um produto com possibilidades comerciais para este público consumidor. No Gráfico 10 estão representadas as notas para intenção de compra julgadas pelos atletas, cujos resultados oscilaram entre 3 a 4.



a, b, ab Valores expressos como média das notas atribuídas a intenção de compra  
 a, ab Diferença não significativa; b Diferença significativa para intenção de compra  
 BAZ: bebida comercial de açaí; \*BMA: bebida com maltodextrina e açaí para atletas.  
 BSC: bebida a base de açaí sem conservante e BCC: com conservante

**Gráfico 10** Intenção de compra para as bebidas testadas.

## 7.8 VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira da bebida energética foi avaliada sem conservantes em períodos de sete dias. Antes e após a estocagem foi realizada análise de bolores e leveduras, pH e características sensoriais (cor, sabor, aroma e aspecto global). Para avaliar a vida de prateleira é necessário entender o conjunto de reações microbiológicas, físicas, enzimáticas e químicas que venham a interferir com a qualidade do alimento ou produto e identificar os motivos e mecanismos responsáveis pela degradação ou perda das características sensoriais. A Tabela 27 contém os resultados da vida de prateleira.

Foram testadas inicialmente as bebidas B1 e B7 com suco de lima ácida (CL) e sem o suco de lima (SL), em temperatura ambiente por sete dias (20 - 22 °C) e sob refrigeração em geladeira comercial (4-8 °C). Esta primeira avaliação sugeriu que o suco de lima ácida possivelmente auxiliou na estabilização da cor da bebida,

pela manutenção do pH abaixo de 4,0 e também pela possível redução da degradação das antocianinas na bebida, sob refrigeração.

Deve ser ressaltado que quanto à estabilidade oxidativa a bebida mostrou potencial contra oxidação (267 dias) em condições controladas, fato este importante para comercialização do produto e para fins da patente (Tabela 21).

**Tabela 27** Vida de prateleira

Amostra	Temperatura °C	Tempo dias	Aspectos sensoriais	Microbiologia	pH
<b>B1 SL</b>	20 a 22	7	cor escura, sabor terroso odor forte, com sedimentos fermentação intensa aroma de café passado, gordura sobrenadante	Bolores e leveduras > 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	5,3
<b>*B1 CL</b>	4 a 8	7	sabor doce, cor violácea Sabor de fruta passada sem aroma de açaí	Bolores e leveduras > 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	4,5
<b>B7 SL</b>	20 a 22		cor violeta escura/marrom sem aroma de açaí sem bolores aparentes gordura sobrenadante	Bolores e leveduras > 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	5,08
<b>*B7 CL</b>	4 a 8		manteve cor do açaí aroma leve de açaí perda de sabor ácido aroma agradável similar ao dia do preparo	Bolores e leveduras < 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	3,53

\*Bebidas B1 e B7 com suco de lima ácida (CL) e Bebidas sem o suco (SL).

Para garantir maior segurança alimentar no ensaio clínico, a bebida selecionada passou por controle microbiológico de sete semanas, em estufa climatizada (49 dias), sendo verificado no estudo que as amostras mantiveram-se em conformidade à legislação (BRASIL, 2001; 2003).

## 7.9 ENSAIO CLÍNICO

### 7.9.1 Características da amostra e importância do estudo morfológico e dietético

A análise das características morfológicas da amostra foi realizada para avaliação do estado nutricional dos indivíduos, para percepção de similaridade nas



características antropométricas dos sujeitos, para verificar as discrepâncias físicas e dietéticas em relação às modalidades esportivas praticadas e os possíveis riscos durante a realização dos testes. A amostra de atletas (19 a 49 anos) para o estudo morfológico e dietético correspondeu a um total de 78 atletas (n=78) divididos em 43 voluntários da Marinha/CEFAN/RJ (n=43), sendo 24 do sexo feminino (n=24♀; pentatlo naval: n=5; futebol feminino: n=19) e 19 do sexo masculino (n=19♂, pentatlo naval: n=14; maratonistas: n=5), além de mais 35 atletas (n=35), entre atletas voluntários do sexo masculino da Aeronáutica/UNIFA (♂ n=8, pentatlo aeronáutico; n=2: Taekwondo; n= 2: maratonistas), e 21 voluntários velocistas (♂n= 19 e ♀n=2) do Projeto Lançar-se para o Futuro de Atletismo (Secretaria Municipal de Esportes e Lazer/ RJ). Os atletas foram voluntários da pesquisa entre os anos de 2010 a 2012, após o estudo ter sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/HUCFF/UFRJ, Protocolo 112/10, ANEXO B) e assinarem o Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE- Apêndice D).

No período de 2011, ocorreram os Jogos Mundiais Militares e, portanto, o recrutamento dos voluntários foi facilitado pelo período competitivo e grande presença de atletas de outros estados no Rio de Janeiro. Contudo, do grupo recrutado, as atletas do sexo feminino (Futebol, n=19; atletismo, n=2), não consumiram a bebida a base de açaí, somente um n=5 (Pentatlo naval) consumiram à bebida, porém, estes dados não serão mostrados nesse trabalho.

O ensaio clínico foi realizado por um n= 33 atletas do sexo masculino, entre voluntários do pentatlo naval e aeronáutico, velocistas e maratonistas. Participaram do estudo clínico piloto 14 atletas da Marinha, CEFAN/RJ (n=14) e destes, somente cinco (n=5) dos participantes permaneceram para realização do ensaio controlado realizado em 2011. Esses atletas realizaram aptidão cardiorrespiratória e o protocolo incremental em rampa, no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Marinha/CEFAN/RJ. Infelizmente os dados do teste em rampa com estes atletas não puderam ser aproveitados, devido à falha na condução da corrida em esteira, já que não foi realizada a inclinação na esteira rolante definida preliminarmente pelos pesquisadores (LABSAU, IEFD/UERJ), porém foi verificado entre os atletas, o aumento do tempo de exaustão com o consumo da bebida. Além destes atletas completaram o ensaio controlado 14 atletas do sexo masculino (n=7: pentatlo aeronáutico; n=7: velocistas).

Para análise final dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e fisiológicos completaram o ensaio 28 atletas (n=28). Portanto, serão aqui descritos os resultados para o ensaio clínico piloto e controlado com os 28 voluntários que completaram o estudo clínico.

## 7.9.2 Ensaio clínico piloto

### 7.9.2.1 Amostra: Características morfológicas, treinamento, perfil dietético e hematológico

Quatorze voluntários treinados do sexo masculino (n=14) em fase pré-competitiva e treinamento similar, participaram do ensaio piloto (CEFAN/RJ). O grupo era composto de dez atletas do pentatlo naval (n=10) e quatro maratonistas (n=4), que apresentaram características morfológicas similares e boa capacidade aeróbia. A única discrepância observada foi para o peso e índice de massa corporal que variou entre os atletas. Os resultados para a faixa etária, características morfológicas, capacidade aeróbia e de treinamento dos atletas participantes do ensaio piloto estão descritos nas Tabelas 28, 29 e na Tabela 30, o perfil hematológico do grupo.

**Tabela 28** Faixa etária e características morfológicas dos atletas

Parâmetro	Média ± DP	Faixa observada
Idade (anos)	29,9 ± 8,58	21 – 49
Peso (Kg)	70,7 ± 9,40	52,0 – 87,8
Estatura (m)	1,74 ± 0,10	1,65 – 1,84
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	22,9 ± 1,98	19,1– 27,5
% Gordura	8,1 ± 2,70	5,0 – 1,4

Valores apresentados como média ± DP (n=14). Todos os sujeitos eram atletas de alto rendimento.

**Tabela 29** Treinamento dos atletas e capacidade aeróbia média do grupo (n=14)

<b>Treinamento</b>	<b>Média ± DP</b>
Tempo (anos)	5,8 ± 3,4
Frequência (semanal)	5,2 ± 0,7
Duração (horas)	4,6 ± 1,4
VO <sub>2</sub> Max (mL.Kg.min <sup>-1</sup> )	56,6 ± 1,8

\*Valores apresentados por média ± DP. Capacidade aeróbia (VO<sub>2</sub>max mL.Kg.min<sup>-1</sup>).

**Tabela 30** Perfil hematológico e imunológico dos atletas

<b><sup>1</sup>Variáveis hematológicas</b>	<b>*Referência</b>	<b>Média ± DP</b>
Eritrócitos (x10 <sup>12</sup> .L <sup>-1</sup> )	4,5 – 6,0	4,78 ± 0,27
Hemoglobina (g/L)	13,5 – 18,0	14,12 ± 0,89
Hematócrito (%)	42,0 – 52,0	42,24 ± 2,40
Plaquetas (x10 <sup>9</sup> .L <sup>-1</sup> )	150 – 400	230,50 ± 24,50
Leucócitos (x10 <sup>9</sup> .L <sup>-1</sup> )	5000 – 8000	6280 ± 1,85
Linfócitos (%)	21 – 35	37,50 ± 28,0
<sup>a</sup> Contagem total de Linfócitos	>2000	1680,70 ± 555,50

\*Valores apresentados como média ± DP (n=14). <sup>1</sup>Perfil hematológico; <sup>a</sup>Perfil imunológico (<sup>a</sup>CTL: Leucócitos totais X linfócitos % ÷ 100).

Segundo os resultados para o perfil hematológico do grupo (média ± DP), verificou-se que os indivíduos estavam em condições clínicas adequadas e de acordo com as taxas de normalidade para os parâmetros estudados (Tabela 30), porém foi observada ligeira alteração do sistema imunológico do grupo pelo resultado na contagem total de linfócitos (CTL).

Os dados da ingestão habitual foram analisados a partir de registro dietético habitual de três dias e calculados através de software de análise nutricional (Virtual Nutriplus©, SP, Brasil). Os dados foram comparados à ingestão dietética de referência (DRIs, 2005; ADA, 2009), cujo o intuito foi o de verificar a inadequação dietética entre os indivíduos.

O consumo total de energia entre os atletas ficou em cerca de 2.930 Kcal (~ 12306 kJ). A média de ingestão calórica total (Kcal) consumida pelos atletas foi de aproximadamente 41,5 Kcal/Kg/dia e a ingestão de carboidratos ficou próxima dos

requisitos ideais para atletas (400 g/dia). Proteínas e lipídios ficaram acima do recomendado (49%; 27%), para atletas em competição. Antioxidantes e micronutrientes como vitaminas A, E, C e magnésio estavam abaixo da ingestão recomendada. Ficou demonstrada pela análise dietética, ingestão insuficiente de vitamina A (14,6%), vitamina E (7,0%) e folato (56,7 %). Por outro lado, o ascorbato (Vitamina C) ficou levemente acima do padrão recomendado para adultos (2,8%).

**Tabela 31** Análise da ingestão habitual de nutrientes dos atletas e inadequação %

Variável Nutricional	<sup>1</sup> Ingestão ideal mín/máx	<sup>2</sup> Ingestão média diária	<sup>3</sup> Inadequação%	<sup>4</sup> Faixa de ingestão mín/máx observada
Carboidratos (g)	424,2- 480,6	375,5±105,4	↓ 17,1	210 – 549
Proteínas (g)	76,7 – 90,9	125,1 ± 26,0	↑ 49,3	66 –164
Lipídios (g)	65,1- 97,6	103,5 ± 33,3	↑ 27,3	51–186
Fibras (g)	20,0- 30,0	26,8 ± 11,6	↑ 7,2	9,0 – 45,0
Energia (Kcal)	2589 – 3165	2930,9 ± 683,7	↑ 1,8	1563 – 4246
Vitamina A	900	767,1 ± 755,6	↓14,6	114 – 2696
Vitamina E (mg)	15,0	14,0 ± 5,9	↓ 7,0	4,3 – 26
Vitamina C (mg)	90,0	92,5 ± 77,9	↑ 2,8	7,0 – 241
Folato (µg)	400	173,3 ± 64,1	↓ 56,7	92 – 322
Cálcio (mg)	1000	909,0 ± 556,2	↓ 9,1	183 – 1861
Ferro (mg)	8,0	21,7± 5,9	↑ 171,3	12,0 – 31,0
Magnésio (mg)	400-420	282,1± 83,7	↓ 31,2	123 – 404
Zinco (µg)	11,0	17,3 ± 5,4	↑ 57,0	8,0 – 26,0
Selênio (µg)	55,0	96,1± 34,4	↑ 74,7	26 –160
Cobre (µg)	900	1500,0 ± 0,4	↑ 66,7	700 – 2100

\*Valores apresentados como média ± DP com base no consumo médio habitual dos atletas.<sup>1</sup>Valor de ingestão ideal mínimo e máximo para carboidratos, proteínas e lipídios, segundo ingestão de referência: DRIs (2005) e ADA/ACSM (2009).<sup>1</sup>Cálculo do valor mínimo e máximo de micronutrientes e macronutrientes com base na idade entre 19 a 50 anos.<sup>2</sup>Média diária da ingestão dietética habitual. <sup>3</sup>Probabilidade de inadequação entre a média de ingestão habitual dos atletas comparada com as de referência (%). <sup>4</sup>Mínima e máxima ingestão de nutrientes observada entre os atletas.

### 7.9.2.2 Análise dos marcadores bioquímicos de estresse muscular e oxidativo

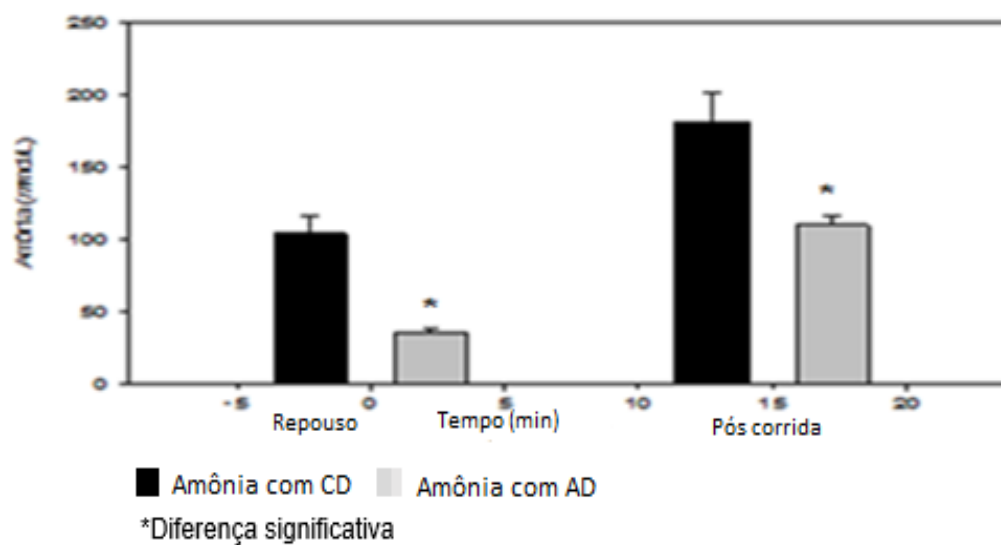
Foi demonstrado no ensaio piloto que a corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$  elevou os marcadores de estresse oxidativo (MDA, GPx) e de injúria muscular (amônia, CK e LDH), como observado na Tabela 33; Figuras 37A, 37B, 37C.

O consumo da bebida energética a base de açaí (AD) resultou em diminuição da amônia plasmática em repouso (Tabela 32; Figura 37A), quando comparada à ingestão da bebida controle (CD), em repouso e após o teste de corrida em campo (repouso- CD:  $109,57 \pm 47,61$ ; AD:  $35,57 \pm 8,72$ ; pós-exercício-CD:  $196,07 \pm 20,62$ ; AD:  $115,28 \pm 23,40$ ,  $p < 0,05$ ). Em adição, a atividade da glutatona peroxidase ficou igualmente reduzida (Figura 37b, Tabela 32), em repouso (CD:  $33,93 \pm 3,07$ ; AD:  $12,91 \pm 1,23$ ,  $p < 0,01$ ) e após o teste de corrida (CD  $32,50 \pm 4,83$ ; AD:  $12,76 \pm 1,20$ ,  $p < 0,01$ ).

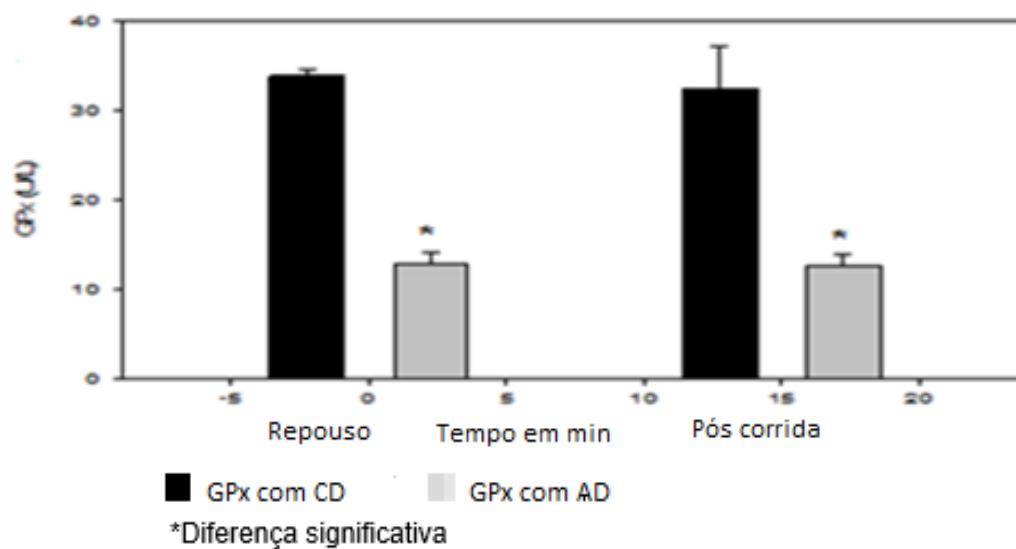
**Tabela 32** Análises dos marcadores de estresse muscular e oxidativo com CD e AD em repouso e após a corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$ , até a exaustão.

Variáveis	*Repouso			*Após corrida em campo até exaustão		
	CD	AD	P	CD	AD	P
Amônia ( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>109,57<math>\pm</math>12,6*</b>	<b>*35,57<math>\pm</math>2,33</b>	<b>0,001</b>	<b>196,07<math>\pm</math>20,62*</b>	<b>115,29<math>\pm</math>6,25*</b>	<b>0,004</b>
Urato ( $\text{mmol/L}$ )	0,26 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,528	0,30 $\pm$ 0,014	0,30 $\pm$ 0,012	0,833
Ureia ( $\text{mmol/L}$ )	5,22 $\pm$ 0,27	5,68 $\pm$ 0,25	0,098	5,4 $\pm$ 0,27	5,83 $\pm$ 0,03	0,139
Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	85,83 $\pm$ 3,54	89,28 $\pm$ 3,54	0,254	113,15 $\pm$ 3,54	115,80 $\pm$ 3,44	0,292
CK total (U/L)	326,79 $\pm$ 94,32	<b>568,5<math>\pm</math>63,92*</b>	<b>0,013</b>	396,57 $\pm$ 122,69	<b>645,43<math>\pm</math>77,61*</b>	<b>0,013</b>
LDH (U/L)	280,64 $\pm$ 12,69	<b>329,28<math>\pm</math>13,64*</b>	<b>0,002</b>	350,07 $\pm$ 16,47	<b>389,79<math>\pm</math>19,6*</b>	<b>0,047</b>
GPx (U/L)	33,92 $\pm$ 3,07	<b>12,91<math>\pm</math>1,23*</b>	<b>0,001</b>	32,50 $\pm$ 4,83	<b>12,76<math>\pm</math>1,20*</b>	<b>0,001</b>
MDA ( $\text{mmol/L}$ )	NA	NA	—	2,3 $\pm$ 0,14	2,4 $\pm$ 0,19	<b>NS</b>

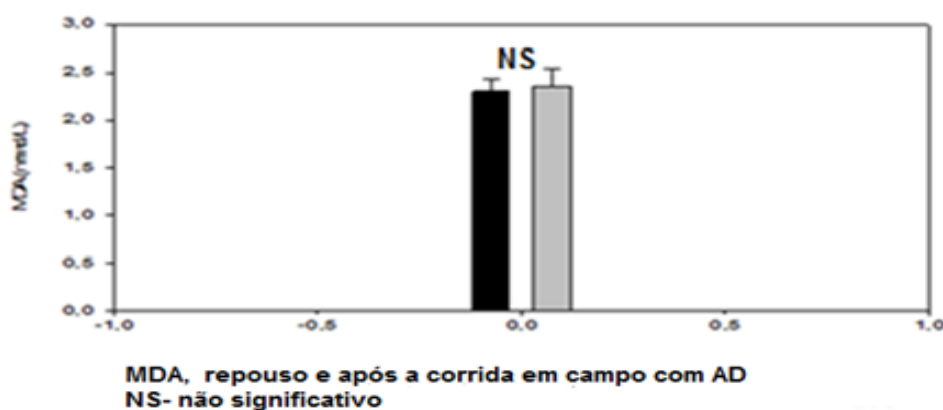
\*Dados apresentados como média  $\pm$  EP (erro padrão); \*Teste *t* Student pareado ( $p < 0,05$ ); CD: condição controle. AD: condição experimental com uso da bebida à base de açaí; LDH: lactato desidrogenase; CK: creatinoquinase total; NA: não avaliado; NS: não significativo. \*Em negrito, diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



**Figura 37A** Amônia em repouso e após corrida em campo (n=14) com CD e AD.



**Figura 37B** GPx em repouso e após corrida em campo (n=14) com CD e AD.



**Figura 37C** MDA antes e após corrida em campo (n=14) com AD.

As concentrações de MDA (mensuradas apenas com uso de AD) foram mantidas em repouso e após a corrida em campo, como observado na Figura 37C e Tabela 32 (AD repouso:  $2,3 \pm 0,52$ ; AD: pós-exercício  $2,4 \pm 0,71$ ,  $p > 0,05$ ). Verificou-se que não houve mudanças nas concentrações de ureia, urato e creatinina para ambas as condições ( $p > 0,05$ ). Por outro lado as concentrações de CK e LDH (Tabela 32) ficaram mais elevadas com o consumo da AD quando comparadas à condição CD ( $P < 0,05$ ).

### 7.9.3 Ensaio clínico controlado

7.9.3.1 Amostra: Características morfológicas, fisiológicas e perfil dietético dos atletas.

No ensaio controlado foram também estudadas as características morfológicas, fisiológicas e de faixa etária dos voluntários. Na Tabela 33 estão representados os dados de faixa etária, aptidão cardiorrespiratória e características antropométricas dos atletas ( $n=14$ ) que finalizaram o ensaio clínico controlado

**Tabela 33** Características morfológicas, aptidão cardiorrespiratória e faixa etária dos atletas ( $n=14$ ).

Variável	Média $\pm$ DP	Faixa observada
Idade (anos)	$26,0 \pm 6,85$	19 – 39
Peso (Kg)	$71,2 \pm 7,21$	58,8 – 89,0
Altura (m)	$1,75 \pm 0,07$	1,64 – 1,92
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	$22,5 \pm 1,97$	17,9 – 24,9
% de Gordura	$5,8 \pm 2,83$	2,9 – 12,6
VO <sub>2máx</sub> (mL.Kg.min <sup>-1</sup> )	$52,84 \pm 6,8$	42,18 – 69,9

A análise das características dos atletas apontou que o grupo era composto de categorias esportivas distintas pela faixa observada para a aptidão cardiorrespiratória do grupo (VO<sub>2máx</sub>). Ademais, todos apresentavam percentual de gordura baixo, o que sugeriu grande volume de treinamento e gasto energético. Para os dados de aptidão cardiorrespiratória foi observado entre os maratonistas ( $n=2$ ) e atletas do pentatlo aeronáutico ( $n=5$ ), maior VO<sub>2máx</sub> e VO<sub>2pico</sub>, quando comparados aos velocistas ( $n=7$ ). Todos os atletas apresentaram condicionamento cardiorrespiratório adequado para os testes físicos. Na Tabela 34a estão apontados

os resultados da avaliação dietética inicial do grupo antes dos testes (dois meses anteriores) e na Tabela 34b, o valor diário energético total definido para o estudo nas duas condições experimentais (WAED e AED). Os resultados para a alimentação usual do grupo de atletas que participaram do ensaio controlado (Tabela 35a) apontaram inadequação na ingestão de carboidratos ( $\downarrow$ 21,6%), ingestão proteica e lipídica acima do recomendado (21,4% e 37,8% respectivamente) e ingestão média de folato abaixo da recomendação de referência (24%). Por outro lado, foi observado que a média de ingestão de antioxidantes na dieta dos atletas estava adequada (Vitamina C:  $\uparrow$ 50,4%; Vitamina E:  $\uparrow$ 39,3%, vitamina A:  $\uparrow$ 30,8%, selênio:  $\uparrow$ 42,4%), principalmente entre os atletas do pentatlo aeronáutico e maratonistas.

**Tabela 34a** Avaliação dietética inicial dos atletas (n=14)

Variável nutricional	Faixa de ingestão *mín-máx	Ingestão média diária	<sup>a</sup> Ingestão dietética ideal
Carboidratos (g)	*167,2 – 810,6	434,4 $\pm$ 156,6	569
Proteínas (g)	*82,7 – 201,1	136,2 $\pm$ 39,49	107
Lipídios (g)	*37,7 – 142,4	91,65 $\pm$ 33,63	57
Vitamina A (mg)	444,3 – 3304,6	1303,9 $\pm$ 915,4	900
Vitamina E (mg)	*8,10 – 318,4	38,1 $\pm$ 81,0	15
Vitamina C (mg)	*28,0 – 607,3	181,5 $\pm$ 184,8	90
Vitamina D ( $\mu$ g)	1,90 – 57,4	10,6 $\pm$ 19,9	1,2
Vitamina B6 (mg)	*0,71 – 6,2	2,97 $\pm$ 1,43	1,3
Folato ( $\mu$ g)	*22,8 – 822,2	303,9 $\pm$ 236,0	400
Magnésio (mg)	*65,0 – 430,0	252,6 $\pm$ 108,4	420
Zinco ( $\mu$ g)	*1,66 – 30,8	13,8 $\pm$ 10,7	11
Selênio ( $\mu$ g)	*13,3 – 388,0	95,4 $\pm$ 95,6	55
Cobre ( $\mu$ g)	*0,40 – 74,6	6,54 $\pm$ 19,6	900

\*Dados apresentados como média  $\pm$  DP para ingestão dietética habitual dos atletas. mín/máx: mínimo/máximo

\*Inadequação na faixa mínima. <sup>a</sup>Ingestão dietética ideal segundo padrões de referência (DRIs, 2005; ACSM, 2009).



A partir do estudo dietético dos atletas e das inadequações nutricionais observadas foi realizada palestra de educação nutricional com todos os voluntários envolvidos antes dos testes, para destacar a importância da mudança de hábitos alimentares, segundo a prática desportiva praticada, além de estratégias de melhora dos hábitos alimentares e qual deveria ser a dieta ideal para treinamentos regulares, competições e durante os testes. Neste período os atletas também receberam as instruções e recomendações quanto aos procedimentos nas condições experimentais.

A ingestão média calórica do grupo estudado foi de  $2630 \pm 531,71$  Kcal, com déficit aproximado de 500 kcal diárias. Portanto, as palestras foram fundamentais para o entendimento acerca da importância da dieta para os atletas, cujo intuito foi o de serem reduzidas as discrepâncias dietéticas que pudessem interferir no metabolismo e/ ou prejudicassem os voluntários durante os testes.

Para o ensaio, a ingestão média no café da manhã foi de  $594,73 \pm 48,9$  Kcal, com a inclusão de um suco adoçado com maltodextrina no café da manhã habitual (WAED: condição controle) até o primeiro dia de realização do teste máximo (CPET).

Foi observado na análise dietética, que o jejum mostrou-se equilibrado para a realização do protocolo máximo incremental em rampa nas condições WAED e AED. Não houve diferença calórica significativa na ingestão de nutrientes e vitaminas antioxidantes nas condições experimentais AED e WAED ( $p > 0,05$ ), conforme demonstrado na Tabela 34b.

Segundo os resultados da Tabela 34b ficou demonstrado que a ingestão de macronutrientes e de vitaminas antioxidantes (A, C, E) dos atletas foi incrementada em aproximadamente 10% quando comparada à condição controle (WAED) e que a adição da bebida não alterou significativamente a ingestão habitual do grupo estudado ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 34b** Média  $\pm$  DP da ingestão diária (n=14) modificada (calorias totais, macronutrientes e vitaminas antioxidantes) antes de cada teste.

Variáveis	Média $\pm$ DP WAED	Média $\pm$ DP AED	*Valor P
Energia (kcal)	2837,43 $\pm$ 605,48	3083,93 $\pm$ 605,48	0,223
Carboidratos (g)	136,21 $\pm$ 39,49	146,86 $\pm$ 39,49	0,077
Proteínas (g)	434,38 $\pm$ 156,59	509,73 $\pm$ 156,59	0,421
Lipídeos (g)	91,6 $\pm$ 33,63	98,16 $\pm$ 33,63	0,613
Vitamina C (mg)	129,43 $\pm$ 92,62	129,45 $\pm$ 92,62	1,000
Vitamina E (mg)	17,64 $\pm$ 8,72	19,70 $\pm$ 8,72	0,370
Vitamina A ( $\mu$ g)	1232,5 $\pm$ 775,60	1232,51 $\pm$ 775,60	0,982

\*Sem diferença significativa na ingestão dietética de nutrientes nas duas condições experimentais (p>0,05).

A Tabela 35 descreve o conteúdo em macronutrientes, antocianinas e polifenóis totais e a atividade antioxidante da bebida à base de açaí (AED). Segundo os resultados apresentados na Tabela 35, a bebida apresentou bom conteúdo energético e de atividade antioxidante para ser consumida entre os voluntários.

**Tabela 35** Média $\pm$  DP do conteúdo energético, de macronutrientes, polifenóis e antocianinas totais e de atividade antioxidante da bebida energética à base de açaí liofilizado (AED).

Variáveis	Média $\pm$ DP
Energia (kcal)	402,50 $\pm$ 3,09
Proteínas (g)	10,65 $\pm$ 0,60
Carboidratos (g)	75,35 $\pm$ 1,20
Lipídios (g)	6,51 $\pm$ 0,87
<sup>a</sup> Antocianinas totais (mg)	27,58 $\pm$ 0,81
<sup>b</sup> Fenólicos totais (mg.100mL <sup>-1</sup> EAG)	44, 3 $\pm$ 3,6
<sup>c</sup> ORAC ( $\mu$ g.mL <sup>-1</sup> Trolox Equiv)	74,13 $\pm$ 1,83

<sup>a</sup>Antocianinas totais monoméricas em 300mL (cid-glu:cianidina-glucosídeo)

<sup>b</sup>Fenólicos totais (EAG: equivalentes em ácido gálico).

<sup>c</sup>Capacidade antioxidante: uds Orac ( $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> equivalentes em Trolox.)

### 7.9.3.2 Teste cardiopulmonar e protocolo incremental em rampa

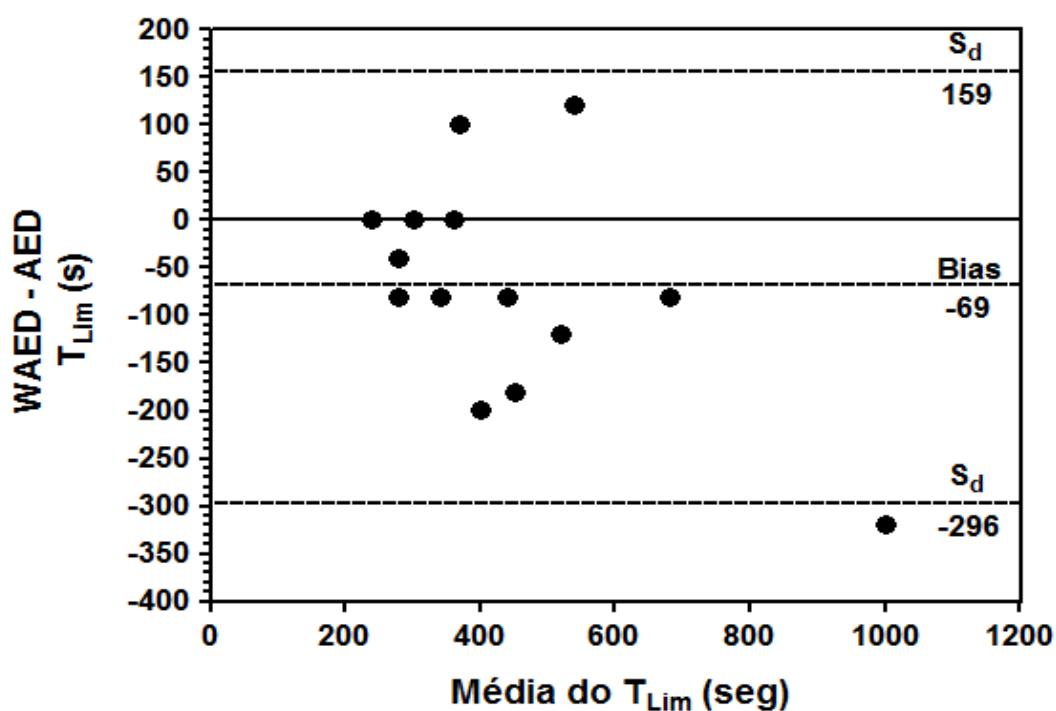
Na Tabela 36 estão descritas as variáveis fisiológicas para o teste incremental em rampa com cargas contínuas até a exaustão. Os dados da Tabela 36 estão representados como média  $\pm$  DP para as variáveis do teste incremental em rampa, como velocidade na esteira, inclinação e tempo até a exaustão durante o exercício com cargas contínuas de trabalho a 60% e 90%  $VO_{2m\acute{a}x}$ , nas condições WAED e AED. Todos os sujeitos satisfizeram pelo menos três dos quatro critérios estipulados no protocolo de exercício incremental em rampa, para ambas as condições experimentais.

**Tabela 36** Média  $\pm$  DP, para as variáveis de entrada do protocolo cardiopulmonar máximo incremental em rampa (CPET), velocidade, inclinação na esteira e tempo de exaustão durante o exercício com cargas contínuas nas condições WAED e AED.

	Variáveis	Média $\pm$ DP
<b>Teste máximo incremental em rampa CPET</b>	Freq. cardíaca máx (bat.min <sup>-1</sup> )	184 $\pm$ 10,0
	$VO_{2m\acute{a}x}$ (mL.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	51,9 $\pm$ 7,9
	$VO_{2m\acute{a}x}$ (L.min <sup>-1</sup> )	3,8 $\pm$ 0,5
	Ventilação/minuto (L.min <sup>-1</sup> )	98,5 $\pm$ 12,6
	Razão de troca respiratória	1,20 $\pm$ 0,16
	Velocidade de pico na esteira (km.h <sup>-1</sup> )	15,6 $\pm$ 1,5
	Pico de inclinação na esteira (%)	5,2 $\pm$ 0,9
	Tempo até a exaustão (s)	690 $\pm$ 105
<b>Taxa contínua de trabalho a 60% <math>VO_{2m\acute{a}x}</math></b>	Velocidade na esteira (km.h <sup>-1</sup> )	9,4 $\pm$ 0,9
	Inclinação na esteira (%)	3,0 $\pm$ 0,5
	Tempo (s)	300
<b>Taxa contínua de trabalho a 90% <math>VO_{2m\acute{a}x}</math></b>	Velocidade na esteira (km.h <sup>-1</sup> )	14,1 $\pm$ 1,3
	Inclinação na esteira (%)	4,5 $\pm$ 0,8
	<b>*Tempo até exaustão na condição WAED (s)</b>	<b>409 <math>\pm</math> 175</b>
	<b>*Tempo até exaustão na condição AED (s)</b>	<b>477 <math>\pm</math> 2,0</b>

**CPET:** Teste cardiopulmonar de exercício;  $VO_{2m\acute{a}x}$ : captação máxima de oxigênio; (s): segundos; WAED: condição controle, sem uso de AED; AED: condição experimental. \*Diferença significativa no tempo de exaustão.

Na Figura 38 está representada a distribuição das diferenças dos testes, nas condições WAED e AED em função do tempo até a exaustão para cada atleta (n=14). A média  $\pm$  DP do tempo até a exaustão observada de 477 (237) s durante a condição AED foi significativamente maior que a observada para a condição WAED, cujo tempo foi de 409 (175) s (diferença entre as médias = 69 s, 95% CI = -136 s p/ 2 s, t = 2,2, p = 0,045). (CI: intervalo de confiança).



**Figura 38** Diagrama de Bland-Altman mostrando as diferenças individuais entre as condições WAED e AED, para o tempo de exaustão (T<sub>Lim</sub>). A primeira e a terceira linhas horizontais tracejadas em cada posição no gráfico, representam os limites de 95% em acordo com o tratamento. S<sub>d</sub> = desvio padrão das diferenças.

#### 4.9.3.3 Análise dos marcadores bioquímicos de estresse muscular, oxidativo e imunológico

A Tabela 37 descreve os dados como média  $\pm$  DP para os marcadores de sistema imunológico (leucócitos totais, linfócitos e células segmentadas), de injúria muscular (amônia, creatinina, urato, ureia), de atividade de enzimas hepáticas (ALT; AST; LDH; CK total) e de estresse oxidativo: MDA e GPx, em repouso e após o exercício com cargas contínuas até a exaustão nas condições WAED e AED.

Na Tabela 37 verificou-se que na condição WAED ocorreu um aumento de 197% na amonemia após o exercício ( $30,64 \pm 18,24 \mu\text{mol.L}^{-1}$  para  $91,0 \pm 31,57 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), demonstrando que o protocolo de exercício foi capaz de induzir estresse muscular nos atletas (média da diferença =  $-60,357 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , 95% CI =  $-74,719$  para  $-45,995 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ,  $t = -9,079$ ,  $p < 0,001$ ).

**Tabela 37** Análise de marcadores do sistema imunológico, marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo em repouso e após o teste máximo em rampa.

Marcadores	Repouso		P	Pós-exercício com cargas contínuas até a exaustão		P
	WAED	AED		WAED	AED	
<b>Sistema imunológico</b>						
Leucócitos totais ( $10^9 \cdot \text{L mm}^3$ )	$5636 \pm 1695$	$5716 \pm 1376$	0,728	$9868 \pm 27,70$	$9633 \pm 29,5$	0,513
Linfócitos (%)	$42,14 \pm 10,9$	$23,0 \pm 23,4$	<b>*0,017</b>	$57,69 \pm 7,25$	$53,08 \pm 9,8$	<b>*0,051</b>
Neutrófilos (%)	$47,57 \pm 11,03$	$42,92 \pm 11,79$	0,194	$33,14 \pm 10,04$	$33,43 \pm 9,09$	0,919
<b>Estresse Muscular e hepático</b>						
Amônia ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) ( $\mu\text{mol/L}$ )	$30,64 \pm 18,24$	$36,14 \pm 23,14$	0,545	$91,00 \pm 31,57$	$72,93 \pm 29,66$	<b>*0,024</b>
Urato ( $\mu\text{mol/L}$ )	$0,24 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,039$	0,740	$0,25 \pm 0,039$	$0,24 \pm 0,04$	0,214
Ureia ( $\text{mmol/L}$ )	$4,59 \pm 1,06$	$5,7 \pm 1,30$	0,151	$4,72 \pm 1,07$	$5,44 \pm 1,30$	<b>*0,025</b>
Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	$71,60 \pm 16,77$	$60,11 \pm 11,49$	<b>*0,020</b>	$83,09 \pm 79,56$	$64,53 \pm 61,88$	<b>*0,041</b>
LDH (U/L)	$326,64 \pm 71,74$	$374,93 \pm 86,56$	<b>*0,005</b>	$388,35 \pm 75,6$	$402,78 \pm 65,6$	0,153
CK (U/L)	$254,21 \pm 216,7$	$337,43 \pm 185,64$	0,287	$293,64 \pm 230,4$	$395,42 \pm 218,0$	0,104
ALT (U/L)	$25,29 \pm 10,21$	$26,29 \pm 12,26$	0,350	$29,36 \pm 11,8$	$28,71 \pm 9,99$	0,539
AST (U/L)	$32,86 \pm 18,48$	$33,93 \pm 9,70$	0,358	$40,14 \pm 21,47$	$39,5 \pm 10,6$	0,455
<b>Estresse oxidativo</b>						
MDA ( $\text{mmol/L}$ )	$3,64 \pm 0,72$	$3,26 \pm 0,78$	0,186	$3,89 \pm 0,73$	$3,20 \pm 0,69$	<b>*0,05</b>
GPx (U/L)	$6948,36 \pm 1403,90$	$7008,07 \pm 1341,63$	0,896	$7081,57 \pm 1760,01$	$6829,5 \pm 1171,83$	0,435

\*Em negrito, dados com diferença significativa,  $P \leq 0,05$ .

A condição WAED resultou em significativo aumento nas concentrações plasmáticas dos marcadores de estresse muscular e hepático ( $p < 0,001$ ): creatinina (16%), LDH (19%), ALT (16%), AST (22%) e CK (15%), em resposta ao exercício. Na condição AED ocorreu aumento da amonemia em 103% ( $36,14 \pm 23,14 \mu\text{mol.L}^{-1}$  para  $72,93 \pm 29,66 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ), contudo AED reduziu o aparecimento da amônia em 19,1%, com significativa diferença da condição WAED, após o exercício ( $91,0 \pm 31,57 \mu\text{mol.L}^{-1}$  versus  $72,93 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , média da diferença =  $18,071 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , 95% CI =  $2,751$  para  $33,392 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ,  $t = 2,548$ ,  $p = 0,024$ ).

O consumo de AED reduziu em 16% ( $p=0,02$ ) o aumento da creatinina sérica em repouso ( $71,6 \pm 16,77 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ;  $60,11 \pm 11,49 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) e 22% após o exercício máximo quando comparado à condição WAED (média da diferença =  $14,49 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , 95% CI = 0,637 para  $28,37 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ,  $t = 2,150$ ,  $p = 0,041$ ). Por outro lado, AED também aumentou os níveis séricos de marcadores de estresse muscular e hepático, porém, em menor proporção que a condição WAED: LDH (7%), ALT (12%), AST (16%) e CK (17%).

Embora a média verificada para os valores de CK tenha sido um pouco mais elevada na condição AED, não houve diferença significativa entre WAED e AED em relação ao aumento do marcador ( $P>0,05$ ). A LDH ficou elevada em repouso na condição AED ( $p=0,005$ ), mas após o exercício na condição WAED houve aumento do marcador em 19%, quando comparado a AED (7%), (WAED:  $326,64 \pm 71,74 \text{ U/L}$  para  $388,35 \pm 75,6 \text{ U/L}$ ,  $p<0,001$ ; AED:  $374,93 \pm 86,56 \text{ U/L}$  a  $402,78 \pm 65,6 \text{ U/L}$ ,  $p=0,100$ ). AST aumentou significativamente em ambas as condições ( $p<0,001$ ), porém na condição WAED aumentou em 22%, enquanto em AED o aumento foi de 16% ( $32,86 \pm 18,48$ ;  $40,14 \pm 21,47 \text{ U/L}$ ,  $p<0,001$ ;  $33,93 \pm 9,7 \text{ U/L}$  vs  $39,5 \pm 10,6 \text{ U/L}$ ,  $p=0,009$ ). Não houve diferença significativa para ALT e urato em repouso e após o exercício em ambas as condições. Na condição AED houve maior aumento da ureia sérica no pós-exercício em relação a WAED ( $p=0,025$ ).

Para os marcadores de estresse oxidativo WAED resultou em aumento de 7% e 2% para o MDA e GPx, respectivamente ( $p>0,05$ ). Na condição AED houve menor aumento do MDA (média da diferença =  $0,686 \text{ mmol.L}^{-1}$ , 95% CI = 0,00636 para  $1,365 \text{ mmol.L}^{-1}$ ,  $t = 2,181$ ,  $p = 0,048$ ), reduzindo em 3% a concentração do marcador (WAED:  $3,89 \pm 0,73 \text{ mmol.L}^{-1}$ ; AED:  $3,20 \pm 0,69 \text{ mmol.L}^{-1}$ ).

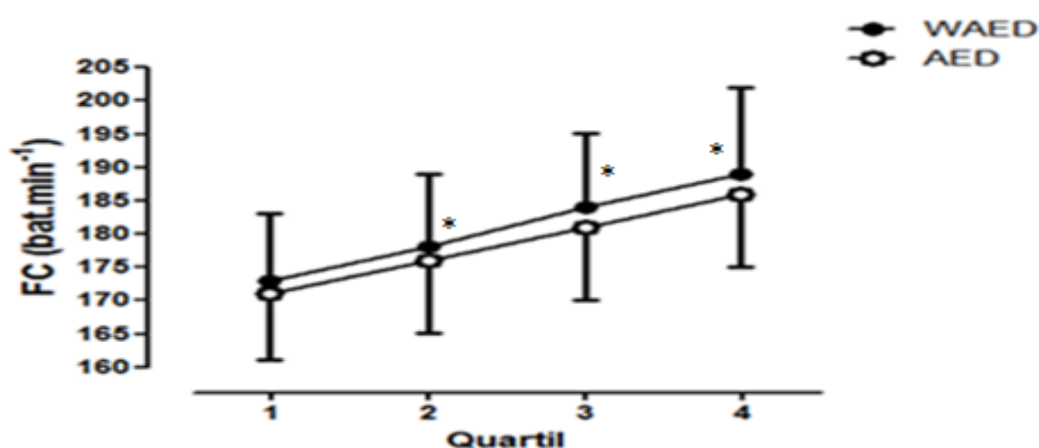
As concentrações da GPx permaneceram estáveis em repouso e após o exercício em ambas as condições (WAED:  $6948,36 \pm 1403,90$ ; AED:  $7008,07 \pm 1341,63 \text{ U/L}$ ,  $p=0,896$ ), porém WAED resultou em ligeiro aumento do marcador (2%), quando comparado a redução da atividade da enzima em 2,5% na condição AED ( $7081,57 \pm 1760,01$ ; AED:  $6829,5 \pm 1171,83 \text{ U/L}$ ,  $p=0,435$ ).

Análises hematológicas foram realizadas e não houve diferença significativa no conteúdo de hemácias, hemoglobina e plaquetas dos atletas (dados não mostrados). Mudanças na contagem de células brancas foram analisadas em repouso e após o exercício com cargas contínuas a 90% do  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ . Foi observado

um aumento de 73,9% e 68,5% na contagem total dos leucócitos nas condições WAED e AED, respectivamente, sem diferença significativa ( $p=0,513$ ). Neutrófilos maduros (% células segmentadas) não mostraram diferença significativa em suas concentrações antes e após o exercício ( $p=0,919$ ). Por outro lado, na condição AED houve redução significativa na contagem percentual de linfócitos periféricos (%) em repouso ( $p=0,017$ ) e após o exercício máximo ( $p=0,0051$ ) (Repouso:  $42,14 \pm 10,9\%$  para  $23,0 \pm 23,4\%$ ; Pós exercício:  $57,69 \pm 7,25\%$  para  $53,08 \pm 9,8\%$ ,  $p=0,051$ ).

#### 7.9.3.4 Análise da percepção de esforço (Borg CR10) e de indicadores cardiopulmonares associados à Fadiga.

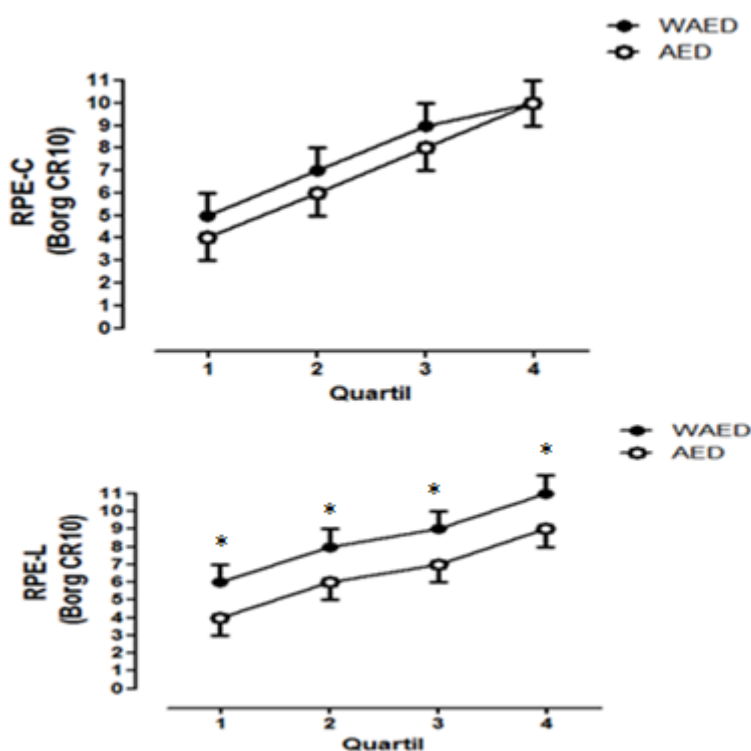
Na Figura 39a está demonstrada a média  $\pm$  DP dos valores da frequência cardíaca (FC) observados para os intervalos de cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão, nas condições WAED e AED.



**Figura 39a** Média  $\pm$  DP para FC (frequência cardíaca) a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão nas condições WAED e AED ( $p<0,01$ ). \* Diferença significativa.

A FC exibiu aumento significativo ao longo do tempo (FC:  $F = 206,6$ ,  $p<0,001$ ) e foi observado que a inclinação da esteira influenciou a condição do exercício ( $F = 15,9$ ,  $p<0,001$ ). A média da FC em cada intervalo de quartil de tempo do exercício foi de aproximadamente  $4,0 \text{ bat} \cdot \text{min}^{-1}$ , mais elevada durante a condição WAED em relação à AED. Na Figura 39b estão demonstrados os parâmetros de percepção subjetiva de esforço, C-RPE, L-RPE, e na Figura 39c para  $\text{VO}_2$ ,  $\text{VCO}_2$  e  $\text{V}_E$ , observados para os intervalos de cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão, nas condições WAED e AED.

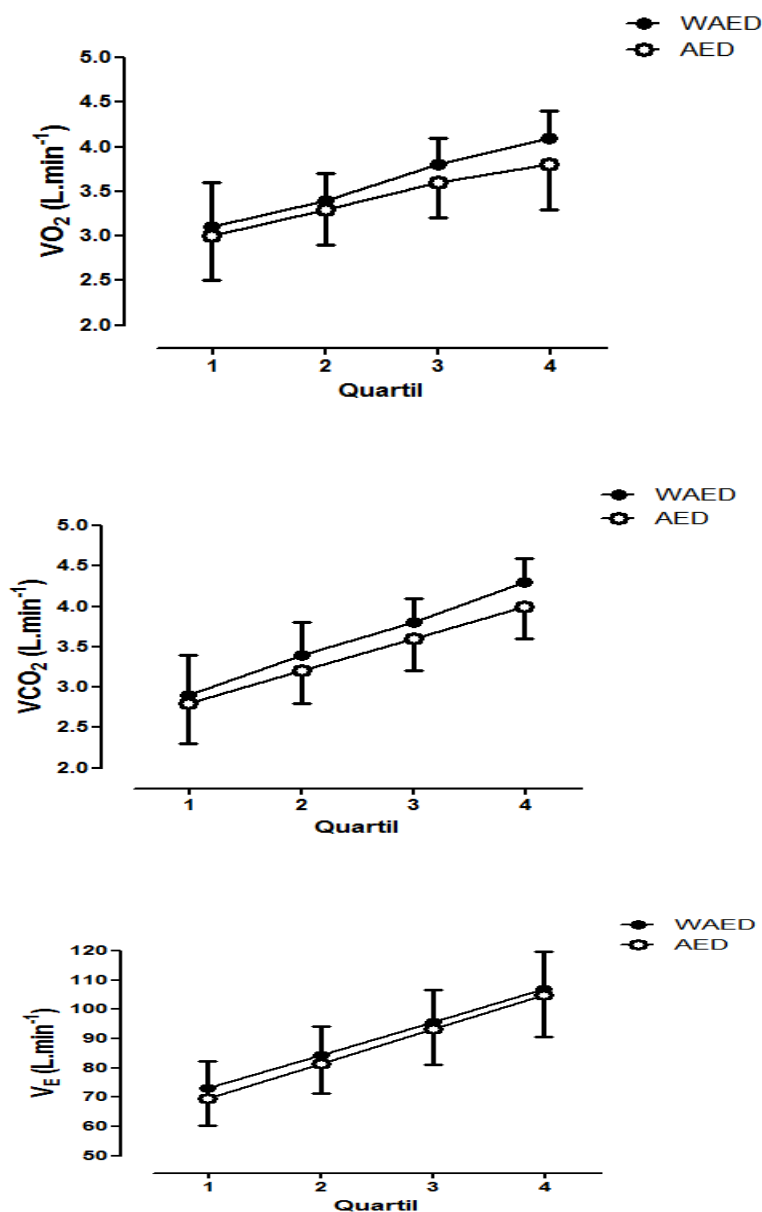
Similarmente para a FC, ambas as fadigas (RPE) local (L) e central (C) (Figura 39b) exibiram aumento ao longo do tempo (C-RPE:  $F = 295,5$   $p < 0,001$ ; L-RPE:  $F=191,4$   $p < 0,001$ ). As respostas da RPE foram significativamente atenuadas na condição AED (C-RPE:  $F = 15,4$ ,  $p < 0,001$ ; L-RPE:  $F = 48,5$ ,  $p < 0,001$ ). Cada intervalo de quartil do exercício foi associado com a média da diferença entre WAED e AED em aproximadamente 0,8 e 1,5 para RPE central e local respectivamente.



**Figura 39b** Média  $\pm$  DP para RPE-C e RPE-L a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão. RPE-C= percepção de esforço central; RPE-L: percepção de esforço local. \* Diferença significativa na RPE-L ao longo do tempo.

Adicionalmente, o  $VO_2$ ,  $VCO_2$  e a  $V_E$  (Figura 39c) também aumentaram ao longo do tempo de duração do teste, para cada carga de exercício ( $VO_2$ :  $F = 35,3$ ,  $p < 0,001$ ;  $VCO_2$ :  $F = 204,1$   $p < 0,001$ ;  $V_E$ :  $F = 227,6$ ,  $p < 0,001$ ), porém o consumo de AED não afetou significativamente estas variáveis ( $VO_2$ :  $F = 0,2$   $p = 0,638$ ;  $VCO_2$ :  $F = 0,2$   $p = 0,686$ ;  $V_E$ :  $F = 2,9$ ,  $p = 0,093$ ), embora os valores de média observados para  $VO_2$ ,  $VCO_2$  e  $V_E$ , em cada intervalo de quartil de tempo no exercício tenham sido 0,17; 0,20 e 2,7  $L \cdot \text{min}^{-1}$  menores durante a condição AED, quando comparada à WAED (Figura 39c).



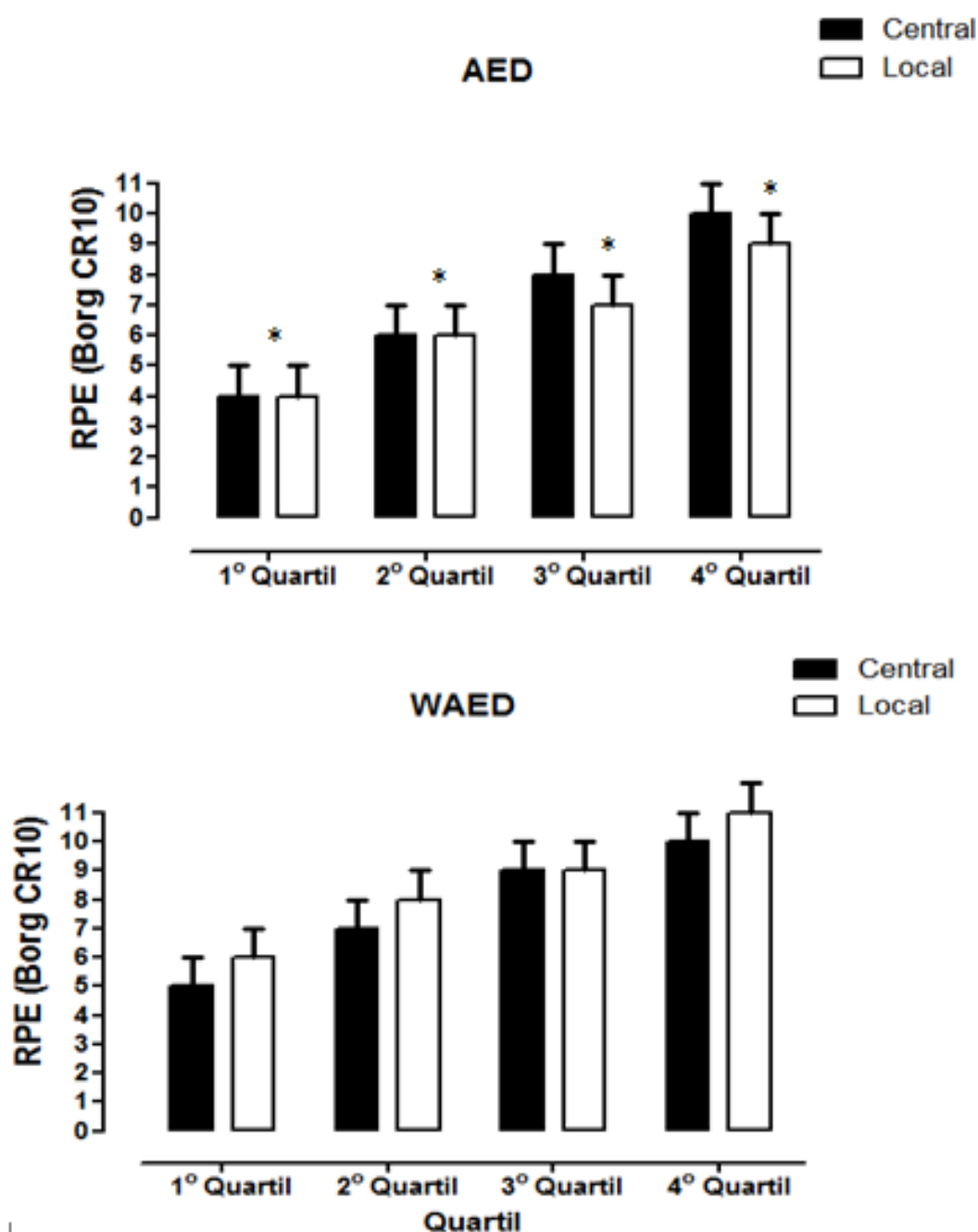


**Figura 39c** Média  $\pm$  DP para  $VO_2$ ,  $VCO_2$  e  $V_E$  a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão.  $VO_2$  = captação de oxigênio;  $VCO_2$  = emissão  $CO_2$ ;  $V_E$  = ventilação pulmonar.

Nas Figuras 39a, 39b e 39c, os dados são apresentados como média  $\pm$  SD para FC,  $VO_2$ ,  $V_E$ ,  $VCO_2$ , C-RPE e L-RPE, a cada quartil de tempo durante exercício com cargas contínuas até a exaustão. O tempo até a exaustão com WAED [média (DP) 409 (175) s.quartil<sup>-1</sup>] foi significativamente mais baixo, que na condição AED [média (DP) 477 (237) s.quartil<sup>-1</sup>]. Valores de P indicaram diferença significativa entre as condições WAED e AED ( $p < 0,001$ ,  $p = 0,028$ ).

Na Figura 40 estão representados graficamente os resultados referentes à percepção de esforço local (L-RPE) e central/geral (C-RPE) entre as condições AED

e WAED ( $p < 0,05$ ), para cada quartil de tempo. Conforme observado na Figura 40, a percepção de esforço foi menor com o consumo de AED.



**Figura 40** Percepção de esforço (RPE) local e geral nas condições AED e WAED  
\* Diferença significativa.

## 7.10 DISCUSSÃO

### 7.10.1 Polpas de açaí, açaí liofilizado e desenvolvimento da bebida energética para atletas

O estudo das diversas polpas integrais comerciais de açaí demonstrou grande variação no teor de umidade entre as marcas analisadas, o que refletiu diretamente no conteúdo de sólidos totais e interferiu com o tipo e a qualidade da polpa de açaí, conforme definido na Instrução Normativa nº1. A legislação define para o açaí, de acordo com a adição ou não de água e seus quantitativos como “polpa de açaí”, Tipo A - “açaí grosso ou especial, com teor de sólidos totais acima de 14%; Tipo B - açaí médio ou regular, com teor de sólidos totais entre 11 a 14% e Tipo C - “açaí fino ou popular com 8 a 11% de sólidos totais (BRASIL, 2000). Como demonstrado na Tabela 7, entre as polpas analisadas, 41,7% (C, D, E, L e M) apresentaram teores de sólidos totais (ST/g.100 g<sup>-1</sup>) de acordo com a classificação definida para polpa de açaí. Os maiores teores de ST%, foram observados para as marcas de polpas C (11,8%), D (8,5%), E (14,1%), L (17,5%) e M (13,1%). Deste modo, sete do total das polpas de açaí analisadas (58,3%) estavam em desacordo com a legislação, pois apresentaram teores de sólidos totais inferiores a 8,0%. As amostras foram então classificadas de acordo com seu tipo, como fino ou açaí popular (D), médio ou açaí regular (C, M), e grosso ou especial (E, L), respectivamente. Os valores de pH entre as amostras variaram de 4,12 a 5,36 (Tabela 7), de acordo com o preconizado pela legislação, que estabelece pH entre 4,0 a 6,2 para polpas de açaí (Quadro 7) (BRASIL, 2000).

Segundo a análise da qualidade microbiológica foi verificado que as amostras estavam dentro de padrões aceitáveis segundo a legislação e, portanto, adequadas para o consumo, o que sugeriu tratamento térmico eficiente entre as marcas de polpas de açaí estudadas.

As análises do conteúdo de fenólicos e antocianinas totais foram importantes, já que trabalhos anteriores reportaram que bons teores destas substâncias em amostras ricas, podem estar associados à forte atividade antioxidante (VELIOGLU *et al.*, 1998; LICHTENTHALER *et al.*, 2005; SCHAUSS *et al.*, 2006a; 2006b; RUFINO *et al.*, 2010).

Neste trabalho, os resultados referentes ao conteúdo de fenólicos totais classificaram as amostras em nível intermediário em polifenóis como reportado

anteriormente por RUFINO *et al.*(2010). Nas amostras de açaí estudadas por esses autores foram encontrados valores entre 457 mg em 100 g de EAG e 3268 mg em 100 g de EAG. Na literatura são apontados teores médios de fenólicos totais entre 1000 a 5000 mg / EAG em 100 g e elevado teor acima de 5000 mg / EAG em 100 g, em relação à matéria seca e 100-500 mg / EAG como teores médios e >500 mg/ EAG em 100 g como elevado teor em matéria fresca (RUFINO *et al.*, 2010). De Rosso *et al.* (2008) mostraram que amostras de polpa congelada de açaí apresentaram valores de 88% em cianidina 3-rutinosídeo e 12% em cianidina 3-glicosídeo do total de antocianinas nas amostras estudadas. Esses autores identificaram pela primeira vez a presença de pelargonidina 3-glicosídeo e cianidina 3-acetil-hexose em amostras e açaí. De Rosso *et al.* (2008), Rufino *et al.* (2010) e Lichtenthaler *et al.* (2005) reportaram bom teores de antocianinas em frutas vermelhas e açaí. Lichtenthaler *et al.* (2005) demonstraram valores de antocianinas que variavam nas amostras de açaí, dependendo de seu tipo, safra e colheita, valores de 30 a 463 mg / litro e 88 a 211 mg / litro, enquanto Gallori *et al.* (2004) reportaram no açaí liofilizado 50 mg / 100g e 319 mg / 100 g. Entre as amostras de açaí liofilizadas analisadas, a polpa L apresentou teores de fenólicos totais acima de 5000 mg, caracterizando conteúdo elevado para estes compostos, enquanto as polpas E e M apresentaram teores médios em fenólicos totais, pois os valores encontrados foram de 2921 e 2202, respectivamente. Em relação às antocianinas totais nas amostras liofilizadas, os valores variaram de 71 a 99 mg / 100 g, sendo os maiores teores observados para a polpa L.

As polpas de maior conteúdo em sólidos totais foram selecionadas para liofilização e as amostras liofilizadas passaram por análises físicas, químicas e de conteúdo de polifenóis e antocianinas totais e de atividade antioxidante pelos métodos ORAC e DPPH. A correlação entre os métodos de análise de fenólicos e antocianinas totais e de atividade antioxidante foi significativa quando observados os Gráficos 1 (antocianinas *versus* fenólicos totais,  $r = 0,9955$ ,  $p < 0,001$ ) e 2 (antocianinas *versus* ORAC,  $r = 0,9921$ ,  $p < 0,001$ ) e 3 (ORAC *versus* fenólicos totais,  $r = 0,9493$ ,  $p < 0,005$ ).

Trabalhos anteriores já reportavam a correlação positiva entre amostras ricas em antocianinas e outros compostos fenólicos, apesar de diferenças de conteúdo entre as substâncias e a variedade de compostos fenólicos presentes nos vegetais e

frutas estudados (LICHTENTHALER *et al.*, 2005; LEE; LEE, 2006). Em contrapartida, estudo anterior mostrou correlação negativa entre os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante entre algumas frutas, grãos e legumes que foram analisados (VELIOGLU *et al.*, 1998). Contudo, o presente trabalho sugeriu que segundo as análises realizadas, a boa atividade antioxidante das amostras liofilizadas poderia estar associada ao maior conteúdo de antocianinas e fenólicos totais, uma vez que exibiram forte correlação com o método ORAC.

A composição nutricional do açaí liofilizado demonstrou bom conteúdo de sólidos totais na amostra selecionada (polpa M) e classificada como polpa de açaí do tipo médio. A polpa selecionada também apresentou bom conteúdo energético, de carboidratos, fibras, proteínas e lipídios insaturados, corroborando com análises nutricionais anteriores no fruto (ROGEZ, 2000; SCHAUSS *et al.*, 2006a; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008). Ademais tinha boa procedência e registro adequado no MAPA.

O planejamento de experimentos foi elaborado com o intuito de se obter a bebida energética à base de açaí liofilizado para atletas, a partir da concentração mínima e máxima de seus principais ingredientes e as interações e os efeitos entre seus componentes. A bebida foi selecionada a partir de planejamento fatorial pela maior atividade antioxidante determinada pelo método ORAC.

O desenvolvimento da bebida estava apoiado nas evidências que apontam que o mercado global de alimentos funcionais é um crescente segmento para a indústria de alimentos e bebidas, e também pela necessidade da área de nutrição esportiva em desenvolver produtos funcionais para atletas. O açaí é um fruto de grande apelo entre esportistas, não só por seus benefícios, mas também por seu sabor e aroma exóticos. Por outro lado, bebidas energéticas são consumidas com frequência por atletas, isto porque estudos já demonstraram os benefícios do consumo de carboidratos na melhora dos estoques de glicogênio e na redução da fadiga (SOUSA *et al.*, 2012; CURREL; JEUKENDRUP, 2008; McANULTY *et al.*, 2007). No planejamento experimental foi verificado que os ingredientes açaí, carboidratos e lima ácida influenciaram na atividade antioxidante ( $p < 0,01$ ), porém os carboidratos não aumentaram esta atividade, quando comparados aos efeitos e interações do açaí e do suco de lima ácida ( $p < 0,01$ ).

A bebida selecionada apresentou maior concentração em equivalentes de trolox e ácido gálico pelo método ORAC e foi observado que nas bebidas formuladas, a maior concentração de açaí esteve associada à maior concentração de fenólicos totais, o que se correlacionou positivamente com a maior atividade antioxidante, e, portanto, aos bons teores de antocianinas totais na bebida (9,44 mg / 100 mL), como também descrito anteriormente para o açaí liofilizado.

As análises de atividade antioxidante demonstraram que as bebidas apresentaram potencial para sequestro de radicais livres de oxigênio, principalmente quando o método ORAC foi utilizado, o que pode ser demonstrado nos Gráficos 7, 8 e 9. Nos experimentos de atividade antioxidante verificou-se que as amostras tiveram comportamento cinético mais lento quando comparadas aos controles (positivo, trolox e ácido gálico). As amostras protegeram e influenciaram na intensidade da fluoresceína ao longo do tempo, demonstrando boa atividade antioxidante. Na bebida selecionada (B7), os valores relativos em unidades de ORAC ( $28,14 \pm 0,54$ ), corresponderam a  $74,13 \pm 2,59 \mu\text{g/mL}$  em equivalentes de Trolox, enquanto a média de atividade das bebidas para este padrão foi de  $55, 58 \pm 17,48 \mu\text{g/mL}$  (Tabela 25). Em equivalentes de ácido gálico, o valor médio de atividade das bebidas foi de  $8,33 \pm 2,41 \mu\text{g} / \text{mL}$ , enquanto a bebida selecionada apresentou valor de  $10,88 \pm 0,24 \mu\text{g} / \text{mL}$ . Dentro dos intervalos observados (Tabela 25, Gráficos 7,8,9), nenhuma bebida apresentou a mesma capacidade de absorvância para o radical de oxigênio, porém os valores foram próximos nas bebidas com concentrações maiores de açaí liofilizado (4%). O mesmo ocorreu quando foi acrescentado conservante na bebida (B9 e B10= BCC). As amostras, portanto, apresentaram boa atividade antioxidante e bons valores relativos de ORAC (Tabela 25), para o padrão Trolox e ácido gálico (18,6 a 28,14 uds), quando comparadas a amostras de suco de uva vermelha, cujos valores relativos de ORAC ficaram em torno de 14,6 a 25 uds em equivalentes de trolox (DÁVALOS; GOMEZ-CORDOVÉS; BEGOÑA, 2004; 2005).

Quanto à aceitabilidade foram avaliadas as características sensoriais ideais na bebida como sabor, doçura, acidez, aroma e cor, e segundo os testes de aceitação aplicados, observou-se que a bebida foi bem aceita entre os provadores. Posteriormente à seleção da bebida foi realizada análise microbiológica para garantir a qualidade do produto que apresentou padrões microbiológicos aceitáveis e,

portanto, o consumo foi recomendado entre os voluntários que realizariam o ensaio clínico.

### **7.10.2 Ensaio clínico piloto**

No estudo piloto, as características morfológicas dos atletas e a ingestão dietética habitual antes do teste de corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$  foram avaliadas para verificar o estado nutricional e de saúde dos voluntários. Segundo as características físicas e clínicas do grupo, os atletas eram bem treinados, apresentavam similaridade antropométrica, boa capacidade aeróbia e de condições clínicas, portanto, aptos a realizarem o ensaio clínico. Estudos anteriores já discutiram a importância de se verificar as semelhanças de características físicas e fisiológicas entre atletas de diferentes modalidades esportivas e em treinamento regular, para se reduzir as variações entre grupos de categorias distintas (LOUCKS *et al.*, 2004; TUROCY *et al.*, 2011).

No ensaio piloto, os voluntários executaram um teste de corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$  até a exaustão, cujo intuito foi o de induzir estresse muscular e oxidativo nos atletas. Para o ensaio foi levantada a hipótese de que o uso da bebida controle (CD) e da bebida energética à base de açaí (AD) poderia atuar nos participantes contra a elevação de marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo. Contudo, estudos anteriores já demonstraram o papel da atividade física regular como fator de proteção antioxidante (LAUFS *et al.*, 2005; PEAKE; SUZUKI; COOMBES, 2007) e outras investigações reportaram que protocolos de treinamentos exaustivos e exercícios submáximos prolongados eram condições que poderiam induzir estresse muscular e oxidativo, resultando em elevação de marcadores de injúria muscular e de dano oxidativo (URSO; CLARKSON, 2003; PILACZYNSKA-SZCZESNIAK *et al.*, 2005; DUTHIE *et al.*, 2006; MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2006; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BESSA *et al.*, 2008).

Um interessante resultado do estudo piloto foi a elevação da amonemia dos indivíduos com o teste de corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$  até a exaustão. A bebida energética à base de açaí mostrou potencial para a redução do estresse muscular e oxidativo, pela atenuação da amonemia e da atividade da glutathione peroxidase. Estudos com açaí já apontaram suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias *in vitro* e *in vivo* (SCHAUSS *et al.*, 2006a, 2006b; MATHEUS *et al.*, 2006; JENSEN *et al.*, 2008; 2009; SOUZA *et al.*, 2010). Foi observado nas Bases

de dados Science Direct e PubMed poucos estudos que abordassem o consumo de bebida energética à base de açaí para atletas, apesar do grande interesse nas propriedades do açaí como alimento funcional (LICHTENTHALER *et al.*, 2005; KANG *et al.*, 2010; HOGAN *et al.*, 2010).

Estudos com indivíduos treinados que realizaram teste a 70% do  $VO_{2máx}$  em cicloergômetro mostrou elevação de marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo. Contudo, o consumo de antioxidantes de frutas e de uma bebida antioxidante foi capaz de reduzir o dano oxidativo e proteico em resposta ao exercício (MORILLAS-RUIZ *et al.*, 2005; 2006). Em adição, suplementos à base de carboidratos e aminoácidos também atenuaram a anemia induzida por atividade exaustiva (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BESSA *et al.*, 2008). O aparecimento do marcador está fortemente associado com a depleção energética e, por conseguinte, com o surgimento de fadiga periférica e central (NYBO *et al.*, 2005; SCHULZ; HERMANN, 2003; MONFORT *et al.*, 2002). Portanto, AD foi desenvolvida para auxiliar atletas, principalmente com deficiência de ingestão em nutrientes energéticos e antioxidantes, que são importantes na redução da resposta inflamatória, injúria muscular e estresse oxidativo que ocorre em atividades de alta intensidade.

Muitos autores já demonstraram que o treinamento frequente e de alta intensidade pode ocasionar depleção energética e aumentar os níveis de marcadores de injúria muscular e hepática. Estes indicadores podem ser observados por análises da amônia, CK, LDH, além de outros metabólitos nitrogenados e marcadores de estresse oxidativo, que influenciam sobremaneira o metabolismo de indivíduos submetidos a treinamentos exaustivos prolongados ou de curta duração (PILACZYNSKA-SZCZESNIAK *et al.*, 2005; NIEMAN; McANULTY, 2005; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BESSA *et al.*, 2008).

Estudos anteriores examinaram alterações hematológicas e bioquímicas durante o exercício prolongado para entender as respostas metabólicas com o uso de diferentes suplementos (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; BESSA *et al.*, 2008; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008). Este estudo propôs analisar o potencial da suplementação aguda da bebida energética à base de açaí no controle do estresse oxidativo e muscular antes e depois de um teste de corrida em campo em alta intensidade e de curta duração. Os resultados para as análises



bioquímicas com os voluntários em repouso e após o exercício nas condições experimentais, mostrou que AD promoveu redução significativa da amônia e da atividade da GPx após o teste de corrida (Figuras 37A, 37B, 37C, Tabela 32). Um achado interessante no trabalho foi que a bebida energética à base de açaí (AD) promoveu redução de 207% na amonemia em repouso quando comparada a condição CD (Figura 37A). Porém foi observado, que em ambas as condições houve aumento da amonemia, após a corrida em campo. Contudo, AD foi capaz de reduzir em 58% o aparecimento da amônia no plasma ( $p < 0,01$ ). O estudo também revelou que AD modulou positivamente a GPx, quando comparada a CD em repouso (60%). Neste estudo, foi também mensurada a capacidade da AD em controlar a peroxidação lipídica, que pode ocorrer em exercícios intensos (PANZA *et al.*, 2008; BÉSCOS *et al.*, 2009). O consumo de AD não resultou em aumento do MDA, após a corrida em campo ( $p > 0,05$ ), o que sugeriu potencial da bebida em controlar o dano lipídico, já que as concentrações de MDA foram mantidas até o final da corrida em alta intensidade (Figura 37C).

Outros metabólitos nitrogenados (ureia, urato e creatinina) não tiveram suas concentrações elevadas em ambas as condições, conforme verificado na Tabela 32, porém AD não foi capaz de reduzir a atividade da CK e LDH quando comparada a condição CD, possivelmente pelo maior esforço realizado na condição AD, em função do aumento da carga energética dos voluntários com o consumo da bebida.

Segundo o *status* nutricional do grupo, foi verificado desequilíbrio no consumo de alguns nutrientes. A ingestão de dietas desequilibradas pode limitar o desempenho em competições ou em treinamentos intensos (STEWART; STEWART, 2007). Entre os atletas foi observada ingestão inadequada para alguns nutrientes antioxidantes (vitaminas A, E, folato e magnésio) que desempenham importante papel em vários processos metabólicos e na proteção do organismo contra o dano oxidativo (HEANEY *et al.*, 2010, LUKASKI, 2004; LAMPRECHT *et al.*, 2007). As deficiências nutricionais observadas possivelmente ocorreram pelo baixo consumo de frutas e vegetais verificados entre os voluntários. Observou-se também consumo elevado de gorduras saturadas e proteínas, em detrimento aos carboidratos, quando comparado à ingestão dietética de referência (Tabela 31).

A deficiência de carboidratos pode limitar a disponibilidade de ATP e promover desequilíbrio crônico, caso o consumo se mantiver inadequado, o que

pode refletir no status antioxidante do indivíduo (CURRELL; JEKEUNDRUP, 2008; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012). Segundo o diagnóstico dietético inicial, grande parte dos atletas estava em risco nutricional pela deficiência subclínica observada para alguns nutrientes. Para minimizar esta situação, os atletas foram orientados a melhorar seus hábitos alimentares, através de palestra dois meses antes do ensaio piloto, sobre a importância da adequação da alimentação para indivíduos fisicamente ativos e para serem evitados riscos metabólicos pelo desequilíbrio na dieta dos participantes. Segundo análise do registro alimentar habitual do grupo ficou demonstrada inadequação na ingestão de carboidratos ( $\downarrow 17,1\%$ ), alta ingestão de proteínas ( $\uparrow 49,3\%$ ) e gorduras ( $\uparrow 27,3\%$ ), quando comparada com a ingestão de referência, embora o consumo total de energia ficou adequado para a maior parte dos atletas (41,5 kcal / kg / dia; 174,3 KJ / kg / dia).

A ingestão elevada de proteínas não predispõe risco renal em indivíduos saudáveis, mas o excesso pode limitar o consumo de outros nutrientes necessários para suportar o nível energético ideal em treinamentos e competições (TIPTON; WITARD, 2007). Uma ingestão proteica superior a 40% pode limitar a ingestão de lipídios e carboidratos, comprometendo, assim, os benefícios desses nutrientes durante os treinamentos (TIPTON; WITARD, 2007).

O consumo excessivo de lipídios pode provocar o acúmulo intramiocelular de metabólitos lipídicos e, portanto, interferir com a sinalização de insulina, o que poderia induzir fadiga (BONEN; DOHM; VAN LON, 2006). Foi também observada inadequação na ingestão de vitamina A ( $\downarrow 14,6\%$ ), E ( $\downarrow 14\%$ ), folato ( $\downarrow 56,7\%$ ) e magnésio ( $\downarrow 31,2\%$ ), mineral este que atua como cofator de enzimas antioxidantes. A deficiência crônica das vitaminas A, E e folato pode comprometer a capacidade antioxidante no plasma (LAMPRECHT *et al.*, 2007; NANTZ *et al.*, 2006). A privação de magnésio pode aumentar a necessidade de oxigênio no metabolismo de indivíduos que executam exercícios submáximos e com isso diminuir o desempenho (NIELSEN; LUKASKI, 2006). A privação de folato pode resultar em anemia e assim reduzir o desempenho em treinamentos de resistência (LUKASKI, 2004). Foi observada ingestão de cálcio ligeiramente inferior à ingestão de referência (9%). Contudo, verificou-se ingestão acima do recomendado para o ferro (171%), selênio (74,7%), zinco (57,0%), vitamina C (2,8%) e fibras (7,2%), sugerindo uma grande variação de hábitos alimentares entre os participantes (Tabela 31).

O estudo piloto teve algumas limitações: ter sido realizado somente com atletas do sexo masculino e em campo, o que dificultou o controle das variáveis ambientais e metabólicas no trabalho. Em adição, demonstramos apenas medidas descritivas, além de termos analisado o MDA somente com o uso da AD. Apesar das limitações, foi possível demonstrar que o protocolo de corrida em campo a 70% do  $VO_{2\text{máx}}$  foi indutor de estresse muscular e oxidativo, e que AD conseguiu atenuar o aparecimento de alguns marcadores de injúria muscular nos voluntários. Portanto, AD demonstrou potencial como suplemento energético funcional. Contudo, trabalhos mais controlados com atletas devem ser realizados para garantir o grau de recomendação da bebida, com vistas à modulação positiva da amonemia e de marcadores de estresse oxidativo em atividades intensas.

### **7.10.3 Ensaio controlado**

O ensaio controlado teve como objetivo investigar os efeitos do consumo da AED no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo, nas respostas cardiorrespiratórias, na percepção do esforço (RPE) e tolerância ao exercício com cargas contínuas próximas à intensidade máxima (90%  $VO_{2\text{máx}}$ ).

A principal constatação do trabalho foi a de que AED resultou em aumento do tempo de exaustão dos atletas durante o exercício contínuo de curta duração e alta intensidade. A melhora no tempo de exaustão foi seguida de uma atenuação nos marcadores de injúria muscular e de estresse oxidativo, observada pela diminuição da amonemia, creatinina e MDA. Além disso, AED atenuou respostas cardiorrespiratórias, mostrando potencial para controlar a hiperventilação induzida pelo exercício.

Do ponto de vista prático, a AED pode ser uma ferramenta útil e prática para melhorar o desempenho atlético durante protocolos de treinamento em alta intensidade. O estudo é o primeiro a investigar até que ponto o consumo da AED atenuaria a resposta cardiorrespiratória e de percepção do esforço, durante exercícios de curto prazo com cargas contínuas, em alta intensidade até a exaustão e, também, no aumento da tolerância ao esforço. Embora os mecanismos exatos pelos quais AED aumentou a tolerância ao exercício não tenham sido elucidados, pode ser explicado parcialmente pelos vários ajustes fisiológicos que ocorrem em resposta ao aumento dos níveis de  $CO_2$  durante exercícios extenuantes. Existe uma estreita associação entre a produção de íons de hidrogênio via ácido láctico e

sistema respiratório, bem como, o impacto da capacidade de tamponamento de íons ácidos, como a amônia ( $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ), o que poderia induzir fadiga periférica e central, prejudicando o desempenho sustentável (NYBO *et al.*, 2005; WELLS; NORRIS, 2009) .

Neste sentido, sabe-se que exercícios de alta intensidade (ou seja, acima do limiar anaeróbio ou em intensidade quase máxima) são caracterizados pelo acúmulo de  $\text{CO}_2$  e íons hidrogênio dentro do músculo, o que leva à ativação da resposta ventilatória, via metaborreceptores, resultando em aumento do  $\text{VO}_2$ ,  $\text{VCO}_2$  e  $V_E$  na tentativa do organismo fornecer a quantidade necessária de  $\text{O}_2$  para o trabalho mecânico a ser realizado (WASSERMAN *et al.*, 1973; DAVIS, 1985). Como resultado de um aumento na demanda metabólica e respiratória, a estimulação de  $\text{CO}_2$  pelos quimiorreceptores sinaliza o centro respiratório na medula, que aumenta o trabalho e a frequência cardíaca durante o exercício (MITCHELL, 1985).

Nybo e Rasmussen (2007) demonstraram que a hiperventilação durante o exercício extenuante pode baixar a tensão arterial de dióxido de carbono, influenciando negativamente no fluxo de oxigênio ao cérebro, o que contribuiria para a fadiga precoce. O aumento da ventilação pulmonar aumenta o custo total da atividade e gera competição para o fluxo de sangue entre os músculos respiratórios e locomotores, o que pode resultar em diminuição do desempenho (WELLS; NORRIS, 2009).

A partir dos dados obtidos para FC,  $\text{VO}_2$ ,  $\text{VCO}_2$  e  $V_E$ , em cada intervalo de quartil de tempo, foram observadas médias de 2%, 5%, 6% e 3% menores durante a condição AED, quando comparado à condição WAED, respectivamente. Outro parâmetro verificado no trabalho foi a RPE (resistência periférica ao esforço), que por mecanismos de *feedback* fisiológicos pode ser derivada de indicadores cardiopulmonares (C- RPE) ou periféricos (L- RPE). Fatores cardiopulmonares incluem, entre outros FC,  $\text{VO}_2$  e  $V_E$ , enquanto fatores periféricos / metabólicos incluem o lactato, amônia plasmática, produção de  $\text{CO}_2$ , tensão mecânica e alteração da temperatura corporal (central, muscular e pele) (HAMPSON *et al.*, 2001; NYBO *et al.*, 2005).

No estudo foi observada melhora da C-RPE e L-RPE, em média 11% e 23% mais baixa, respectivamente na condição AED, quando comparada a condição WAED. A diminuição significativa na RPE observada durante a condição AED,

especialmente para L-RPE, pode ser parcialmente explicada pelo aumento da carga energética proporcionada pela bebida e pela atenuação observada para as respostas cardiorrespiratórias, o que possibilitou melhorar a tolerância ao exercício e aumentar significativamente o tempo de exaustão na condição AED (WAED:  $6,86 \pm 2,85$  min *versus* AED:  $7,71 \pm 3,93$  min) (Figuras 38, 39 e 40).

Estudos anteriores demonstraram os efeitos de diferentes suplementos e extratos de frutas em respostas cardiorrespiratórias e fisiológicas. BESCÓS *et al.* (2009) verificaram que a ingestão de L-arginina não foi capaz de melhorar parâmetros fisiológicos durante o exercício a 85% ou 90% do  $VO_{2máx}$ . Por outro lado, MIRANDA-VILELA *et al.* (2009) mostraram que a utilização de cápsulas de óleo de polpa de pequi resultou em efeitos anti-inflamatórios e reduziu os níveis de colesterol total e de pressão arterial, em um grupo de voluntários do sexo masculino com faixa etária de 45 anos.

IVY *et al.* (2003) observaram que suplemento de carboidratos com proteínas mostrou ser eficiente na melhora do desempenho de resistência aeróbia em intensidades variáveis e MURPHY *et al.* (2005) mostraram que a suplementação com creatina favoreceu o aumento da potência aeróbia em homens treinados submetidos a protocolo de ciclismo, quando observada a diminuição da frequência cardíaca ( $\downarrow 3,7\%$ ) e aumento da eficiência no cicloergômetro com cargas submáximas (75 w-150 w).

Os atletas que participaram do estudo controlado estavam em fase competitiva de treinamento e apresentavam maior gasto energético do que em períodos não competitivos, porém, mostraram estar bem treinados e adaptados ao sobretreinamento. Em adição, apresentavam características antropométricas e fisiológicas similares e, portanto, boas condições clínicas para realização dos testes, o que se confirmou pelas análises hematológicas preliminares de verificação do status de saúde do grupo (dados não mostrados).

Até o nosso conhecimento, não foram encontrados estudos com bebidas de açaí específicas para atletas, no controle de marcadores de estresse muscular e oxidativo e em parâmetros de respostas fisiológicas e psicológicas associadas à fadiga, em exercícios com cargas contínuas de trabalho a 60 e 90% do  $VO_{2máx}$ . Neste trabalho ficou demonstrado que o teste de exercício aplicado com cargas contínuas de trabalho a 60 e 90% do  $VO_{2máx}$  foi indutor de estresse muscular e

oxidativo, pelo aumento significativo observado na atividade de enzimas relacionadas à injúria muscular e hepática (CK, LDH, ALT, AST) e na amonemia.

Muitos pesquisadores têm observado em atletas a elevação da amonemia e de marcadores de injúria muscular e hepática em resposta a esforços intensos, já que atividades regulares extenuantes, de longa ou curta duração são associadas a aumento de dano muscular e hepático (GONÇALVES *et al.*, 2012; BESSA *et al.*, 2008; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008; 2007, CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007). Outros trabalhos também reportaram o aumento de marcadores de estresse muscular induzido por depleção energética, em testes submáximos a 60-70% do  $VO_{2máx}$  até a exaustão (SCHULZ; HERMANN, 2003; LANGFORT *et al.*, 2004; RUSSEL; BENTON; KINGSLEY, 2012).

No presente estudo foram observados resultados similares aos citados anteriormente quanto ao aumento do estresse metabólico, pois se verificou elevação de marcadores de injúria muscular em resposta ao teste máximo incremental em rampa até a exaustão. Houve aumento da amonemia em ambas as condições, porém AED foi mais eficiente na redução do aparecimento do marcador. A amônia é considerada indicador de estresse muscular e oxidativo e pode induzir fadiga central e periférica (MONFORT *et al.*, 2002; NYBO *et al.*, 2005, BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008; WILKINSON *et al.*; 2010). A sua elevação já foi reportada anteriormente como indicador de estresse metabólico em vários estudos com atletas (GONÇALVES *et al.*, 2012; BESSA *et al.*, 2008; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007; CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2010).

Os achados para hiperamonemia transitória no presente trabalho estão também de acordo aos encontrados em nosso ensaio piloto, que também induziu elevação significativa da amônia plasmática na condição controle (CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2010). O consumo de AED reduziu a amonemia, possivelmente por ter elevado a carga energética e de antioxidantes na dieta habitual dos voluntários, o que também pode ter sido benéfico no controle do aumento dos indicadores cardiorespiratórios associados à fadiga.

As reações para a produção direta de amônia incluem o aumento da atividade da AMP desaminase e da glutamato desidrogenase (CARVALHO-PEIXOTO, 2005; PRADO *et al.*, 2011). Além disso, a depleção de adenina nucleotídeos (ADP + AMP + ATP) é responsável pela produção de amônia através de AMP deaminase a IMP,

quando este não é reaminado de volta a AMP, como ocorre nos exercícios intensos de curta duração (PRADO *et al.*, 2011).

O aumento nos níveis de amônia em exercícios intensos prejudica atletas na regeneração de ATP, já que o marcador ativa receptores de NMDA que estão associados a prejuízo na função mitocondrial e na diminuição da síntese de ATP. Em adição, aumenta o  $\text{Ca}^{2+}$  intramitocondrial, o que pode afetar a função de diferentes enzimas e o fluxo de íons na cadeia respiratória, favorecendo o aumento de radicais livres e para o surgimento de fadiga precoce (MONFORT *et al.*, 2002).

Nossos achados sugeriram que o protocolo incremental em rampa em alta intensidade induziu estresse muscular, porém o uso de AED protegeu os atletas, pois controlou o aparecimento de marcadores de estresse muscular. Adicionalmente, demonstrou habilidade para atenuar a resposta cardiorrespiratória pelo aumento da tolerância ao exercício e do tempo de exaustão.

Estudos anteriores utilizaram antioxidantes para observar a eficiência dos suplementos e seus compostos bioativos na redução do estresse oxidativo induzido por exercício, utilizando análise de marcadores de estresse oxidativo, indicativos de dano em lípidios, proteínas e de material genético (DNA) (JENSEN *et al.*, 2008; 2009; MUÑOZ *et al.*, 2010; JENSEN *et al.*, 2011).

As fibras musculares esqueléticas geram espécies reativas de oxigênio em uma série de sítios celulares e esta geração pode ser aumentada pela atividade contrátil (JACKSON, 2008). Estudos anteriores sugeriram que a produção de radical superóxido, como um subproduto da atividade mitocondrial era a principal fonte de produção de ROS no músculo, sendo estes radicais associados à injúria muscular. Contudo, a produção de ROS pelo músculo também desempenha importante papel na adaptação fisiológica relacionada às contrações do músculo (PEAKE; SUZUKI; COMBES, 2007; JACKSON, 2008; RISTOW *et al.*, 2009). No entanto, o exercício intenso ou prolongado com elevada frequência pode sobrecarregar a capacidade do sistema antioxidante endógeno, impactando no estado redox de atletas (URSO; CLARKSON, 2003). Portanto, estratégias de intervenção dietética, através do uso de antioxidantes, principalmente para atletas que apresentam baixa ingestão de compostos bioativos na dieta, parece ser necessária, uma vez que pode atenuar a produção de citocinas pró-inflamatórias através da neutralização direta dos ROS

e/ou pela inibição da atividade redox, nas vias de transdução de sinal sensíveis a redox (NIEMAN; JEKEUNDRUP, 2005; PEAKE; SUZUKI; COMBES, 2007).

O ingrediente antioxidante usado para elaboração da AED foi o açaí liofilizado, que se destaca no controle do estresse oxidativo, devido à sua alta capacidade antioxidante. O consumo de AED como uma bebida antioxidante favoreceu os atletas, pois modulou a peroxidação lipídica pela redução significativa do MDA no ensaio controlado. Ademais, mostrou potencial para controlar a atividade da GPx. Esta condição foi também demonstrada em nosso estudo piloto, pela redução significativa da atividade da GPx com o consumo da bebida energética à base de açaí-AD (CARVALHO-PEIXOTO *et al.*, 2010).

Alguns autores apontaram o papel dos antioxidantes no controle do estresse oxidativo em atletas e não atletas. Morillas-Ruiz *et al.* (2005) verificaram os efeitos de antioxidantes fenólicos sobre o estresse oxidativo induzido por exercício em alta intensidade em voluntários atletas e concluíram que o suplemento antioxidante ofereceu proteção para o aumento do estresse oxidativo induzido pelo esforço intenso. Adicionalmente, Panza *et al.* (2008) verificaram que o consumo de chá verde favoravelmente afetou biomarcadores de estresse oxidativo em homens treinados que realizaram atividades de força máxima. Os achados desses estudos foram similares aos encontrados por Jensen *et al.* (2008), em que a utilização de uma mistura de extrato de frutas, incluindo o açaí (120 mL) melhorou a capacidade antioxidante no plasma dos voluntários que realizaram o esforço, além de promover a redução da peroxidação lipídica. Contrariamente a estes achados, Cholewa *et al.* (2008) não observaram efeitos positivos da suplementação de vitamina C sobre o status redox de jogadores de basquete, após exercício máximo, o que se confirmou também em estudo de McNulty *et al.* (2007) que usaram vitamina antioxidante isolada em atletas de alto rendimento. Os autores recomendaram alfa tocoferol (vitamina E) para os atletas de elite que realizaram teste máximo e verificaram que a vitamina E não foi eficiente como antioxidante, agindo no grupo como pró-oxidante.

Outro achado em nosso trabalho foi o aumento da contagem de células da série branca após o teste incremental em rampa a 90%  $VO_{2máx}$ , em ambas as condições. Como já descrito anteriormente, a leucocitose pode ocorrer devido à injúria muscular induzida por atividades extenuantes. Nossos dados estão de acordo com outros pesquisadores que já relataram o comprometimento da função imune



após sessões agudas de exercícios intensos (GONÇALVES *et al.*, 2012; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2007). AED apresentou uma capacidade interessante de atenuar a linfocitose em resposta ao exercício máximo, provavelmente por sua composição em ingredientes energéticos, uma vez que está evidenciado que carboidratos e glutamina podem auxiliar na redução da resposta leucocitária após atividades de alta intensidade (CARVALHO-PEIXOTO; ALVES; CAMERON, 2007; GLEESON, 2007; BASSINI-CAMERON *et al.*, 2008). No entanto, Nantz *et al.* (2006) observaram que o consumo de um extrato concentrado de frutas e vegetais resultou em aumento da imunidade e da capacidade antioxidante do plasma de voluntários adultos saudáveis. No presente estudo, a possível melhora da resposta linfocitária pode ser atribuída aos ingredientes presentes na bebida, o que é corroborado por diversos trabalhos que apontaram as propriedades da glutamina na melhora da resposta imunológica e dos flavonoides do açaí que exercem ação anti-inflamatória e antioxidante no meio biológico.

## 7.11 CONCLUSÃO

O estudo com polpas de açaí integrais e liofilizadas de boa qualidade confirmaram o bom conteúdo nutricional e de agentes bioativos das amostras, o que possibilitou elaborar a bebida à base de açaí, um fruto que se destaca por seu apelo comercial e potencial nutritivo e que estimula o desenvolvimento de produtos funcionais.

No trabalho ficou também demonstrado que a bebida à base de açaí liofilizado, selecionada a partir de planejamento fatorial, apresentou conteúdo nutritivo equilibrado, boa atividade antioxidante, boa aceitabilidade e adequada qualidade microbiológica para ser recomendada e consumida pelos atletas no estudo clínico.

No ensaio clínico piloto foi verificado que os atletas apresentavam bom nível de treinamento e boas condições clínicas para a realização do teste de corrida em campo a 70% do  $VO_{2máx}$ . A alimentação prévia dos voluntários mostrou inadequação para ingestão de carboidratos e nutrientes antioxidantes, o que sugeriu ser um risco para o grupo que se submete a treinamentos extenuantes, com possibilidade de queda no desempenho de resistência e surgimento de fadiga.

A suplementação aguda com AD possibilitou melhora do estado nutricional dos atletas que realizaram a corrida em campo, quando comparada a condição CD. A bebida reduziu a amonemia, a atividade da glutathiona peroxidase e manteve as concentrações do MDA após a corrida. O estudo piloto sugeriu o potencial de AD como bebida energética funcional para atletas, e para confirmar o potencial profilático de AD foi realizado ensaio clínico randomizado controlado, cujo protocolo de exercício foi um teste incremental em rampa em alta intensidade.

No estudo controlado, os atletas estavam em fase competitiva, apresentavam bom nível de treinamento e condicionamento físico e, portanto, possuíam boas condições clínicas para a realização do protocolo incremental em rampa a 90%  $VO_{2máx}$ . Foi observado que o teste incremental em rampa a 90% do  $VO_{2máx}$  elevou marcadores de estresse muscular e oxidativo e induziu elevação na série leucocitária. Contudo, o consumo da bebida antioxidante foi eficiente na redução da percepção do esforço e na melhora do estado nutricional dos voluntários.

Em adição, a suplementação aguda com AED atenuou a elevação de marcadores de estresse muscular e oxidativo, verificado pela redução da creatinina,

amônia plasmática e MDA. AED também apresentou habilidade em modular a elevação da resposta linfocitária e mostrou potencial para controle de outros marcadores de injúria muscular, após o esforço intenso. Ademais, sugeriu ser eficiente para o controle de indicadores cardiorrespiratórios associados à fadiga, observado pelo aumento do tempo de exaustão durante o teste em rampa e pelo aumento da tolerância ao exercício, verificado pela atenuação da percepção do esforço.

Pela redução e modulação positiva dos parâmetros estudados, AED possibilitou o aumento do rendimento dos voluntários e, portanto, pode ser considerada uma bebida funcional para atletas, por seu potencial em aumentar a tolerância ao esforço durante o protocolo de exercício de curta duração e alta intensidade.

## **8 APLICAÇÕES PRÁTICAS e PERSPECTIVAS**

A bebida energética à base de açaí foi desenvolvida pela atenção que vem sendo dada ao fruto nacionalmente e internacionalmente, não só por seu apelo comercial entre atletas e praticantes de atividades físicas, que demandam por produtos com o sabor e o aroma exótico do fruto, como também, pela tendência de consumo desse tipo de bebidas ser interessante no aumento do rendimento e controle da fadiga. Adicionalmente, o açaí vem sendo utilizado como ingrediente funcional pela indústria de alimentos e bebidas, que apostam no seu valor comercial, como também na sua elevada capacidade antioxidante, já demonstrada em diversos trabalhos.

A intenção dos pesquisadores em recomendar o consumo da bebida antes do protocolo de esforço possibilitou alcançar os objetivos traçados pelo estudo, já que demonstrou ser benéfica, pois propiciou à atenuação de indicadores cardiorrespiratórios e de percepção do esforço e também controlou o dano muscular e oxidativo em resposta ao exercício. Os resultados apontaram que a bebida à base de açaí torna-se promissora como suplemento energético funcional e com grande potencial de comercialização e recomendação para atletas que executam atividades em alta intensidade.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos possibilitaram elaboração de patente, artigos, resumos para Congressos, participação em Feira de pesquisa (FAPERJ), além de matérias para jornal, mídia comercial e da UFRJ, com o apoio da Agência de Inovação da Universidade.

As análises físicas, químicas e tecnológicas foram fundamentais para o desenvolvimento da bebida, cuja composição nutricional e atividade antioxidante mostraram ser adequadas para o estudo. Para as análises clínicas, segundo os resultados obtidos no ensaio piloto e controlado foram verificados modulação positiva dos marcadores bioquímicos estudados, atenuação de indicadores cardiorrespiratórios e aumento do tempo de exaustão no teste incremental em rampa a 90% do  $VO_{2máx}$ .

Os resultados sugeriram classificarmos a bebida como suplemento energético funcional para atletas, tornando-a promissora comercialmente e com grau de recomendação para indivíduos que executam atividades em alta intensidade.

## REFERÊNCIAS

ACSM. **ACSM's Guidelines for exercise testing and prescription**. 4<sup>a</sup> ed. Baltimore, Lippincott, Williams & Wilkins, 2009.

ADA. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. RODRIGUEZ, N.R.; DIMARCO, N.M.; LANGLEY, S. **Journal of American Dietetic Association**, v.129, n.3, p. 509-527, 2009.

ALLEN, R.G.; TRESINI, M. Oxidative stress and gene regulation. **Free Radical Biology and Medicine**, v.28, p.463-499, 2000.

ANGUS, D.J.; FEBBRAIO, M.A.; HARGREAVES, M. Plasma glucose kinetics during prolonged exercise in trained humans when fed carbohydrate. **American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism**, v.283, p.573-577, 2002.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>a</sup> ed. Washington: Frances Pouch Downes and Keith Ito. Cap.8, p.20, 2001.

APPELDOORN, M.M.; VINCKEN, J.P.; GRUPPEN, H.; HOLLMAN, P.C. Procyanidin dimers A1, A2, and B2 are absorbed without conjugation or methylation from the small intestine of rats. **Journal of Nutrition**, v.139, n.8, p.1469-73, 2009.

ARUOMA, O.I. The impact of food regulation on the food supply chain. **Toxicology**, v.221, p.119-127, 2006.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17<sup>a</sup> ed. Washington, 1995.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17<sup>a</sup> ed. Washington, D.C., USA, 2000.

AOAC. Official Method of Analysis – 996.08 – *Salmonella* in Foods – Enzyme Linked immunofluorescent Assay Screening Method (VIDAS Samonella [SLM] Assay). 18<sup>a</sup> ed. Cap.17, v.17, n.9-14A, p.139-141, 2005.

BALDISSERA, A.C.; BETTA, F.B.; PENNA, A.L.B.; LINDNER, J. D.D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Revista de Ciências Agrárias**. v.32, n.4, p.1497-1512, 2011.

BARRINGTON, B.; WILLIAMSON, G.; BENNETT, R.N.; DAVIS, B.D.; BRODBELT, J.S.; KROON, P. A. Absorption, conjugation and efflux of the Flavonoids, kaempferol

and galangin, using the intestinal CACO-2/TC7 cell model. **Journal of Functional Foods**, v.1, n.1, p.74-87, 2009.

BASSINI-CAMERON, A.; MONTEIRO, A.; GOMES, A.; WERNECK-DE-CASTRO, J. P. Glutamine protects against increases in blood ammonia in football players in an exercise intensity-dependent way. **British Journal of Sports Medicine**, v. 42, p. 260-266, 2008.

BASSINI-CAMERON, A.; SWEET, E.; BOTTINO, A., BITTAR, C.; VEIGA, C.; CAMERON, L.C. Effect of caffeine supplementation on haematological and biochemical variables in elite soccer players under physical stress conditions. **British Journal of Sports Medicine**, v.41, n.8, p.523-530, 2007.

BEAVER, W.L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B.J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. **Journal of Applied Physiology**, v.60, p. 2020-2027, 1986.

BERNAL, J.; MENDIOLA, J.A.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A. Advanced analysis of nutraceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.55, p. 758-774, 2011.

BÉSCOS, R.; GONZALEZ-HARO; PUJOL, P.; DROBNIC, F.; ALONSO, E.; SANTOLARIA, M.L.; RUIZ; ESTEVE, M.; GALILEA, P. Effects of dietary L-arginine intake on cardiorespiratory and metabolic adaptation in athletes. **Interantional Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism**, v.19, p.355-365, 2009.

BESSA, A.; NISSENBAUM, M.; MONTEIRO, A.; GANDRA, P.G.; NUNES, L.S.; BASSINI-CAMERON, A.; WERNECK-DE-CASTRO, J.P.; DE MACEDO, D.V.; CAMERON, L.C. High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. **British Journal of Sports Medicine**, v.42, p.889-893, 2008.

BLOOMER, R.J.; GOLDFARB, A.H.; MCKENZIE, M.J. Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 38, p.1098-1105, 2006.

BONEN, A.; DOHM, G.L.; VAN LOON, L.J.C. Lipid metabolism, exercise and insulin action. **Essays in Biochemistry**, v.42, p.47-59, 2006.

BOSSCHER, D.; BREYNAERT, A.; PIETERS, L.; HERMANS, N. Food-based strategies to modulate the composition of the intestinal microbiota and their associated health effects. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.60, n.6, p.5-11, 2009.

BORG, G.A. Borg's perceived exertion and pain scales. **Champaign, IL**. ed: Human Kinetics, 1982a.

BORG, G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine in Science and Sports Exercise**, v.14, p.377-381, 1982b.

BRASIL. Ministério da saúde. Conselho Nacional de Pesquisa-CONEP. Resolução 196 de 10 de outubro de 1996. Aprova o regulamento técnico para os procedimentos em pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília, 1996. Disponível em <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/1996/reso196.doc> <Acesso em 8/12/2013>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.16**, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.17**, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos. Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.18**, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.19**, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Brasília, 1999d.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa n.1** de 7 de Janeiro de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de Açaí, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.12** de 2 de Janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, 2001. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 03 de maio de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.360** de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional, 2003. <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 03 de maio de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária: MAPA. **Instrução Normativa 62**. Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos, 2003. [Cap. 1, 2,5,6,15].

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.18**, de 28 de abril de 2010. Dispões sobre alimentos destinados a atletas. Brasília, 2010. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/.../RDC+dos+Atletas+-+Dicol.pdf>. <Acesso em 7/12/2013>.

BRASIL. Ministério da saúde. Conselho Nacional de Pesquisa-CONEP. **Resolução 466** de 12 de dezembro de 2012. Aprova o regulamento técnico para os procedimentos para pesquisa envolvendo seres humanos, 2012. Brasília, 1996.



Disponível em <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf> <Acesso em 8/12/2013>.

BUB, A.; WATZL, B.; BLOCKHAUS, M.; BRIVIBA, K.; LIEGIBEL, U.; MÜLLER, H., POOL-ZOBEL, B.L.; RECHKEMMER, G. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.14, p.90-98, 2003.

BUCHFUEHRER, M.J.; HANSEN, J.E.; ROBINSON, T.E.; SUE, D.Y.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B.J. Optimizing the exercise protocol for cardiopulmonary assessment. **Journal of Applied Physiology**. 55: 1558-1564, 1983.

BUENO, S.M.; LOPES, M.R.V.; GRACIANO, R.A.S.; FERNANDES, E.C.B.; GARCIA-CRUZ, C.H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, p.121-126, 2002.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, R. A. **TIETZ: Fundamentos de Química Clínica**. 6ª ed. Elsevier Editora Ltda, 2008. 984pp.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-papers, 2003, 260pp.

CALEGUER, V. F.; BENASSI, M. T. Efeito da adição de polpa, carboximetilcelulose e goma arábica nas características sensoriais e aceitação de preparados em pó para refresco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.270-277, 2007.

CARDONA, F.; ANDRÉS-LACUEVA, C.; TULIPANI, S.; TINAHONES, F.J.; QUEIPO-ORTUÑO, M.I. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, p.1415-1422, 2013.

CARVALHO-PEIXOTO, J. **Influência da suplementação de glutamina e carboidratos na amonemia de atletas fundistas**. Dissertação [Mestrado em Ciência da Motricidade Humana]. 107 f. Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, RJ, 2005.

CARVALHO-PEIXOTO, J.; ALVES, R.C.; CAMERON, L.C. Glutamine and carbohydrate supplements reduce ammonemia increase during field exercise. **Applied Physiology and Nutrition Metabolism**, v.32, p.1186-1190, 2007.

CARVALHO-PEIXOTO, J.; AGUIAR, R.S.; SMIRDELE, L.A.S.; FINOTELLI, P.V.; BARBI, N.S.; CARVALHO, L.M.J.; MOURA, M.R.L. Effects of an energy drink with açai on ammonemia and status antioxidant in field intense exercise. **Effost Annual Meeting Food and Health**. Dublin, Ireland. p.10-12, Novembro, 2010.

CAZZOLA, R.; RUSSO-VOLPES, S.; CERVATO, G.; CESTARO, B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. **European Journal of Clinical Investigation**, v.33, p.924-30, 2003.

CHIN, Y.W.; CHAIN, H.B.; KELLER, W.J.; KINGHORN, A.D. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (açai) with antioxidant and cytoprotective activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 7759-7764, 2008.

CHIOU, Y.S.; WU, J.C.; HUANG, Q.; SHAHIDI, F.; WANG, Y-J.; HO, C-T.; PAN, M-H. Metabolic and colonic microbiota transformation may enhance the bioactivities of dietary Polyphenols. **Journal of Functional Foods**, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.006>.

CHOLEWA, J.; POPRZECKI, S.; ZAJAC, A.; WASKIEWICZ, Z. The influence of vitamin C on blood oxidative stress parameters in basketball players in response to maximal exercise. **Science and Sports**, v.23, n.3-4, p.176-182, 2008.

CHUN-FU, W.; JING-YU, Y.; FANG, W.; XIAO-XIAO, W. Resveratrol: botanical origin, pharmacological activity and applications. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v.11, n.1, p.0001-00015, 2013.

CIPOLA, L.E. Produção de sucos para envasamento asséptico. **Revista de Alimentos e Tecnologia**, São Paulo, v.8, p.14, 1986.

COUTINHO, M.A.S.; MUZITANO, M.F.; COSTA, S.S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual Química**, v.1, n.3, p.241-256, 2009.

CRUZAT, V.F.; TIRAPEGUI, J. Effects of supplementation with free glutamine and dipeptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. **Cell Biochemistry and Function**, v.28, p.24-30, 2010.

CUNHA, F.A.; MIDGLEY, A.W.; MONTEIRO, W.D.; FARINATTI, P. Influence of cardiopulmonary exercise testing protocol and resting VO<sub>2</sub> assessment on %HRmax, %HRR, %VO<sub>2max</sub> and %VO<sub>2R</sub> relationships. **International Journal of Sports Medicine**, v.31, p.319-326, 2010.

CURREL, K.; JEUKENDRUP, A.E. Superior endurance performance with ingestion of multiple transportable carbohydrates. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 40, n.2, 275-81, 2008.

DANISCO. **Manual operacional e analítico**, Oxipres ML, 2007.

DANSON, E.J.; PATERSON, D.J. Reactive oxygen species and autonomic regulation of cardiac excitability. **Journal of Cardiovascular Electrophysiology**, v.17, p. S104-S112, 2006.

DA SILVA, R.C.; CERQUEIRA DOS SANTOS, P.; ROMANO DE OLIVEIRA, J.S.; SILVA, M.C.N.; MATOS DA SILVA, I. Produção integrada de frutas (pif) e a produção de açai (*Euterpe oleracea* Mart) no Estado do Pará: ameaças ou oportunidades? UFRA/UEPA. Belém / PA / Brasil, Apresentação oral, 2008.

DATAMONITOR. **Global nutraceuticals, industry profile**. Reference Code: 0104-1759. Londres, Novembro, 2004.

DÁVALOS, A.; GOMEZ-CORDOVÉS, C.; BEGOÑA, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.1, p.48-54, 2004.

DÁVALOS, A.; BEGOÑA, B.; GOMEZ-CORDOVÉS, C. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. **Food Chemistry**, v.93, p.325-330, 2005.

DAVISON, G.; CALLISTER, R.; WILLIAMSON, G.; COOPER, K.A.; GLEESON, M. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. **European Journal of Nutrition**, v.51. n.1, p.69-79, 2012.

DE JONG, N.; OCKÉ, M. C.; BRANDERHORST, H. A. C.; FRIELE, R. Demographic and lifestyle characteristics of functional food consumers and dietary supplement users. **British Journal of Nutrition**, v.89, p.273-281, 2003.

DEMBITSKY, V.M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. **Food Research International**, v.44, n.7, p.1671-1701, 2011.

DRIs. Dietary Reference Intakes. In: **Dietary Reference Intakes**. Washington, D. C, Academic Press, 2005. 640pp. Disponível em [www.nap.edu](http://www.nap.edu). Acesso em 10/10/2013.

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

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. **Sistemas de Produção**, 2ª ed, v.4, ISSN 1809-4325. Versão Eletrônica, 2006.

ERBA, D.; RISO, P.; BORDONI, A.; FOTI, P.; BIAGI, P.L.; TESTOLIN, G. Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, p.144-149, 2005.

ESPÍN, J.C.; GARCÍA-CONESA, M.T.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Nutraceuticals: facts and fiction. **Phytochemistry**, v.68, p.2986-3008, 2007.

EUSSEN, S.R.B.M.; HANS, V.; KLUNGEL, O.H; GARSSSEN, J; VAN LOVEREN, H.; VAN KRANEN, H.J.; ROMPELBERG, C.J.M. Functional foods and dietary supplements: Products at the interface between pharma and nutrition. **European Journal of Pharmacology**, v.668, p.S2-S9, 2011.

FELZENSZWALB, I.; DA COSTA MARQUES, M.R.; MAZZEI, J.L.; AIUB, C.A. Toxicological evaluation of *Euterpe edulis*: a potential superfruit to be considered. **Food and Chemical Toxicology**, v.58, p.536-44, 2013.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R.J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dynamic Medicine**, v.8, p.1-25, 2009.  
FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W.A. Assay of glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**, v.105, p.114-20, 1984.

FLUEGEL, S.M.; SHULTZ, T.D.; POWERS, J.R.; CLARK, S.; BARBOSA-LEIKER, C.; WRIGHT, B.R.; FRESON, T.S.; FLUEGEL, HA.; MINCH, J.D.; SCHWARZKOPF, L.K.; MILLER, A.J.; DI FILIPPO, M.M. Whey beverages decrease blood pressure in prehypertensive and hypertensive young men and women. **International Dairy Journal**, v. 20, p.753-760, 2010.

GAEINI, A.; RAHNAMA, N.; HAMEDINIA, M. R. Effects of vitamin E supplementation on oxidative stress at rest and after exercise to exhaustion in athletic students. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v.46, p.458-461, 2006.

GALLORI, S.; BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; BARBOSA, W.L.R.; VINCIERI, F.F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm). **Chromatographia**, v. 59, p.739–743, 2004.

GIAMMARIOLI, S.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Total antioxidant capacity as tool to assess redox *status*: critical view and experimental data. **Free Radical Biology and Medicine**, v.29, p.1106-1114, 2000.

GIRONÉS-VILAPLANA, A.; VILLAÑO, D.; MORENO, D.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. v. 64, c.7, p.897-906, 2013.

GLEESON, M. Immune function in sport and exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.103, n.2, p. 693-699, 2007.

GOLDFARB, A. H.; MCKENZIE, M. J.; BLOOMER, R. J. Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v.32, p.1124-1131, 2007.

GONÇALVES, L.C.; BESSA, A.; FREITAS-DIAS, R.; LUZES, R.; WERNECK-DE-CASTRO, J.P.; BASSINI, A.; CAMERON, L.C. A sportomics strategy to analyze the ability of arginine to modulate both ammonia and lymphocyte levels in blood after high-intensity exercise. **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n.30, p.1-9, 2012.

GONG, M. C.; ARBOGAST, S.; GUO, Z.; MATHENIA, J.; SU, W.; REID, M. B. Calcium-independent phospholipase A2 modulates cytosolic oxidant activity and contractile function in murine skeletal muscle cells. **Journal of Applied Physiology**, v.100, p.399-405, 2006.

GONZALEZ, C.; SANZ-ALFAYATE, G.; AGAPITO, T. M.; GOMEZ-NIÑO, A.; ROCHER, A.; OBESO, A. Significance of ROS in oxygen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hypoxia. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v.132, p.17-41, 2002.

GONZALEZ, C.; AGAPITO, T.M.; ROCHER, A.; GONZALEZ-MARTIN, M.C.; VEGA-AGAPITO, V.; GOMEZ-NIÑO A.; RIGUAL, R.; CASTAÑEDA, J.; OBESO, A. Chemoreception in the context of the general biology of ROS. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v.157, p.30-44, 2007.

GOUVEIA, E. C. Diagnóstico do estado nutricional da população. In: CHAVES, N. **Nutrição básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. [p. 245-274].

GUTIERREZ-MARTIN, Y.; MARTIN-ROMERO, F. J.; INESTA-VAQUERA, F. A.; GUTIERREZ-MERINO, C.; HENAO, F. Modulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase by chronic and acute exposure to peroxynitrite. **European Journal of Biochemistry**, v.271, p.2647-2657, 2004.

HAGEN, S.R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatization and liquid-chromatography of amino acids in food. **Journal of The Association of Official Analytical Chemists**, v.72, n.6, p.912-916, 1989.

HALBERT, M.K.; R.P. BALDWIN. Determination of cysteine and glutathione in plasma and blood by liquid chromatography with electrochemical detection using a chemically modified electrode containing cobalt phthalocyanine. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v.345, p.43-49, 1985.

HAMPSON, D.B.; ST CLAIR GIBSON, A.; LAMBERT, M.I.; NOAKES, T.D. The influence of sensory cues on the perception of exertion during exercise and central regulation of exercise performance. **Sports Medicine**, v.31, p.935-952, 2001.

HASSIMOTTO, N.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Antioxidant capacity of Brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.22, p.394-396, 2009.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açai (*Euterpe oleracea Mart.*)- A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v.4, p.10-21, 2011.

HENRY, C.J. Functional foods. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.64, p.657-659, 2010.

HEANEY, S.; O'CONNOR, H.; GIFFORD, J.; NAUGHTON, G. Comparison of strategies for assessing nutritional adequacy in elite female athletes' dietary intake. **International Journal of Nutrition and Exercise Metabolism**, v.20, p.245-56, 2010.

HEYWARD, V.H.; STOLARCZYK, L.M. **Applied body composition assessment**. Champaign: Human Kinetics, 1996.

HOFMANN, T.; LIEGIBEL, U.; WINTERHALTER, P.; BUB, A.; RECHKEMMER, G.; POOL-ZOBEL, B.L. Intervention with polyphenol-rich fruit juices results in an elevation of glutathione S-transferase P1 (hGSTP1) protein expression in human leukocytes of healthy volunteers. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 50, p.1191-1200, 2006.

HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. **Food Chemistry**, v.118, p.208-214, 2010.

HOMMA, A.L.O.; FRAZÃO, D.A.C. O despertar da fruticultura amazônica. **Fruticultura em Revista**, p.27-31, 2002.

HOMMA, A.K.O.; NOGUEIRA, O.L.; MENEZES, A.J.E.A.; CARVALHO, J.E.U.; NICOLI, C.M.L.; MATOS, G.B. Açai: novos desafios e tendências. **Amazônia Ciência e Desenvolvimento**, v.1, p.7-24, 2006.

HOWLEY, E.T.; BASSETT, J. D.; WELCH, H.G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 27, p. 1292-1301, 1995.

INSTITUTO ADOLF LUTZ (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, v.1, 2005. 553 pp.

IVY, J. L.; RES, P. T.; SPRAGUE, R.C.; WIDZER, M. O. Effect of a carbohydrate-protein supplement on endurance performance during exercise of varying intensity. **International Journal of Nutrition and Exercise Metabolism**, v.13, n.3, p.382-395, 2003.

JACKSON, A.S.; POLLOCK, M.L. Generalized equations for predicting body density of men. **British Journal of Nutrition**, v.40, p. 497-504, 1978.

JACKSON, M.J. Free radicals generated by contracting muscle: by-products of metabolism or key regulators of muscle function? **Free Radical Biology and Medicine**, v.44, n.2, p.132-141, 2008.

JACKSON, M.J. Redox regulation of adaptive responses in skeletal muscle to contractile activity. **Free Radical Biology and Medicine**, v.47, p.1267-1275, 2009.

JACKSON, M.J.; PYE, D.; PALOMERO, J. The production of reactive oxygen and nitrogen species by skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v.102, p.1664-1670, 2007.

JAGANATH, I.B.; MULLEN, W.; EDWARDS, C.A.; CROZIER, A. The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. **Free Radical Research**, v.40, p.1035-1046, 2006.

JAGANATH, I.B.; CROZIER, A. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In: FRAGA, C.G. **Plant Phenolics and Human Health**. Cap.1, p.1-39, New Jersey: Wiley, 2010. 610pp.

JENSEN, G.S.; AGER, D.M.; REDMAN, K.A.; MITZNER, M.A.; BENSON, K.F.; SCHAUSS A.G. Pain reduction and improvement in range of motion after daily consumption of an açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp-fortified polyphenolic-rich fruit and berry juice blend. **Journal of Medicinal Food**, v.14, n.7-8, p.702-11, 2011.

JENSEN, G.S.; SCHAUSS, A.G.; BEAMAN, R.; AGER, D.M. Açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.): Systematic and collaborative study of the phytochemistry, nutrient composition, and in vitro and in vivo bioactivities of the Amazonian palm fruit in humans. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v.15, p.90-91, 2009.

JENSEN, G.S.; WU, X.; PATTERSON, K.M.; BARNES, J.; CARTER, S.G.; SCHERWITZ, L.; BEAMAN, R.; ENDRES, J.R.; SCHAUSS, A.G. *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8326-8333, 2008.

JEKEUNDRUP, A.E. Carbohydrate intake during exercise and performance. **Nutrition**, v.20, n.7, p.669-77, 2004.

JIN, F.; NIEMAN, D.C.; SHANELY, R.A.; KNAB, A.M.; AUSTIN, M.D; SHA, W. The variable plasma quercetin response to 12-week quercetin supplementation in humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n.7, p.692-697, 2010.

KAGEYAMA, N. A direct colorimetric determination of uric acid in serum and urine with uricase-catalase system. **Clinical Chimica Acta**, v.31, p.421-426, 1971.

KANG, J.; LI, Z.; WUB, T.; JENSEN, G.S.; SCHAUSS, A.G. and WUA X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v.122, p.610-617, 2010.

KANG, L.; XIE, C.; LI, Z.; AGARAJAN, S.; SCHAUSS, A.L.; WU, T.; WU, X. Flavonoids from acai (*Euterpe oleraceae* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v.128, p.152-157, 2011.

KARAKAIA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.44, p.453-464, 2004.

KHASSAF, M.; MCARDLE, A.; ESANU, C.; VASILAKI, A.; MCARDLE, GRIFFITHS RD, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defense and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. **Journal of Physiology**, v.549, p.645-6452, 2003.

KHURI, A. T.; CORNELL, J. A. **Mixture designs and analyses**. In:\_\_\_\_\_. Response surfaces-designs and analyses, New York: Marcel Dekker. Cap.9, p.333-373, 1987.

KOSMIDOU, I.; VASSILAKOPOULOS, T.; XAGORARI, A.; ZAKYNTHINOS, S.; PAPAPETROPOULOS, A.; ROUSSOS, C. Production of interleukin-6 by skeletal muscle myotubes. Role of reactive oxygen species. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v.26, p.587-593, 2002.

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

LAMPRECHT, M.; OETTL, K.; SCHWABERGER, G.; HOFMANN, P.; GREILBERGER, J. F. Several indicators of oxidative stress, immunity, and illness improved in trained men consuming an encapsulated juice powder concentrate for 28 weeks. **Journal of Nutrition**, v.137, p.2737-2741, 2007.

LANGFORT, J.; CZARNOWSKI, D.; ZENDZIAN-PIOTROWSKA, M.; ZARZECZNY, R.; GÓRSKI, J. Short-term low carbohydrate diet dissociates lactate and ammonia thresholds in men. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.8, p.260-265, 2004.

LAUFS, U.; WASSMANN, S.; CZECH, T.; MUNZEL, T.; EISENHAUER, M.; BOHM M.; NICKENIG, G. Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**. v.25, p.809-14, 2005.

LEE, R.; BALICK, M.J. Palms, people, and health. **Ethnomedicine**, v.4, n.1, p.59-62, 2008.

LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, p.1269-1278, 2005.

LEE, W.K.; LEE, H.J. The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. **Biofactors**, v.26, p.105-121, 2006.

LI, S.; SANG, S.; PAN, M. H.; LAI, C. S.; LO, C.Y.; YANG, C. S.; HO, C.T. Anti-inflammatory property of the urinary metabolites. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v.17, n.18, p.5177-5181, 2007.

LICHTENTHALER, R.; RODRIGUES, R.B.; MAIA, J.G.; PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea Mart.*(Açaí) fruits. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 56, p. 53-64, 2005.

LIU, R H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.78, p.517S-20S, 2003.

LOUCKS, A.B. Energy balance and body composition in sports and exercise. **Journal of Sports Science**. v. 22, p.1-14, 2004.



LUKASKI, H.C. Vitamin and mineral status: Effects on physical performance. **Nutrition**, v.20, p.632-644, 2004.

MANACH, C.; SCALBERT A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79. n.5, p.727-47, 2004.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C., SCALBERT, A., REMESY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p. S230-242, 2005.

MARGARITIS, I.; ROUSSEAU, A.S. Does physical exercise modify antioxidant requirements? **Nutrition Research Reviews**, v.21, p.3-12, 2008.

MATHEUS, M.E.; DE OLIVEIRA FERNANDES, S.B.; SILVEIRA, C.S.; RODRIGUES, V.P.; MENEZES, F.S.; FERNANDES, P.D. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. on nitric oxide production and iNOS expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v.107, p.291-296, 2006.

MAZIERE, C.; MORLIERE, P.; LOUANDRE, C.; CONTE, M.A.; GOMILLA, C.; SANTUS, R. et al. Low UVA doses activate the transcription factor NFAT in human fibroblasts by a calcium-calcineurin pathway. **Free Radical Biology and Medicine**, v.39, p.1629-1637, 2005.

McANULTY, L.S.; MILLER, L.E., HOSICK, P.A., UTTER, A.C.; QUINDRY, J.C.; McANULTY, S.R. Effect of resveratrol and quercetin supplementation on redox status and inflammation after exercise. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v.38, n.7, p.760-765, 2013.

McANULTY, L.S.; NIEMAN, D.C.; DUMKE, C.L.; SHOOTER, L.A.; HENSON, D.A.; UTTER, A.C.; MILNE, G.; McANULTY, S.R. Effect of blueberry ingestion on natural killer cell counts, oxidative stress, and inflammation prior and after 2.5 h of running. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v.36, n.6, p.976-984, 2011.

McANULTY, S.R.; NIEMAN, D.C.; McANULTY, L.S.; LYNCH, W.S.; JIN, F.; HENSON, D.A. Effect of mixed flavonoids, n-3 fatty acids, and vitamin C on oxidative stress and antioxidant capacity before and after intense cycling. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, n.9, p.530-537, 2005.

McANULTY, S.R.; McANULTY, L.S.; MORROW, J.D.; NIEMAN, D.C.; OWENS, J.T.; CARPER, C.M. Influence of carbohydrate, intense exercise, and rest intervals on hormonal and oxidative changes. **International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism**, v.17, p.478-490, 2007.

MEDVED, I.; BROWN, M.J.; BJORKSTEN, A.R.; MURPH, K.T.; PETERSEN, A.C; SOSTARIC, S.; GONG, X.; McKENNA, M.J. N-acetylcysteine enhances muscle cysteine and glutathione availability and attenuates fatigue during prolonged exercise

in endurance-trained individuals. **Journal of Applied Physiology**, v.97, n.4, p.1477-1485, 2004.

MENEZES, E.M.S. Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí pré-congelada (*Euterpe oleracea*, Mart.). **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2005. 83pp.

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

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

MIDGLEY, A.W.; MCNAUGHTON, L.R.; CARROLL, S. Effect of the VO<sub>2</sub> time-averaging interval on the reproducibility of VO<sub>2max</sub> in healthy athletic subjects. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v.27, p.122-125, 2007.

MIRANDA-VILELA, A.L.; PEREIRA, L.C.S.; GONÇALVES, C.A; GRISOLIA, C.K. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v.29, p.850-858, 2009.

MITCHELL, J.H. Cardiovascular control during exercise: central and reflex neural mechanisms. **American Journal of Cardiology**, v.55, n.10, p.34D-410D, 1985.

MONFORT, P.; KOSENKO, E.; ERCEG, S.; CANALES, J.J.; FELIPO, V. Molecular mechanisms of acute ammonia toxicity: role of NMDA receptors. **Neurochemistry International**, v.41, p.95-10, 2002.

MONTEIRO, M.C.C.; VANNUCCHI, H; DUTRA DE OLIVEIRA, J.E. Utilização do Método Demonstrativo para Avaliação Quantitativa da Ingestão Alimentar. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.36, p.260-287,1986.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G.C. Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros. 2ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003. [433 p.]

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, p.109-122, 2006.

MORILLAS-RUIZ, J. M., VILLEGAS GARCÍA, J. A.; LÓPEZ, F. J.; VIDAL-GUEVARA, M. L.; ZAFRILLA, P. Effects of polyphenolic antioxidants on exercise-induced oxidative stress. **Clinical Nutrition**, v.23, p.444-453, 2006.

MORILLAS-RUIZ, J.M.; ZAFRILLA, P.; ALMAR, M.; CUEVAS, M. J.; LÓPEZ, F. J. ABELLÁN, P.; VILLEGAS, J.A.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J. The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. **European Journal of Applied Physiology**, v.95, p.543-549, 2005.

MUÑOZ, M.E.; GALAN, A.I.; PALACIOS, E.; DIEZ, M.A.; MUGUERZA, B.; COBALEDA, C.; CALVO, J. I.; ARUOMA, O.I.; SANCHEZ-GARCIA, I.; JIMENEZ, R. Effect of an antioxidant functional food beverage on exercise-induced oxidative stress: A long-term and large-scale clinical intervention study. **Toxicology**, v.30, p. 8-19, 2010.

MYERS J.; BUCHANAN, N.; WALSH, D.; KRAEMER, M.; MCAULEY, P.; HAMILTON-WESSLER, M. Comparison of the ramp versus standard exercise protocols. **Journal of American College of Cardiology**, v.17, p.1334-1342, 1991.

MURPHY, A.J.; WATSFORD, M.L.; COUTTS, A.J.; RICHARDS, D.A.B. Effects of creatine supplementation on aerobic power and cardiovascular structure and function. **Journal of Science and Medicine Sports**, v.8, n.3, p.305-313, 2005.

NANTZ, M.P.; ROWE, C.A.; NIEVES, JR.; PERCIVAL, S.S. Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. **Journal of Nutrition**, v.136, p.2606-2610, 2006.

NEIDA, S.; ELBA, S. Characterization of the acaí or manaca (*Euterpe oleracea Mart.*): a fruit of the Amazon. **Archivos Latinoamericanos del Nutrición**, v.57, p. 94-98, 2007.

NEMETH, K.; PLUMB, G.W.; BERRIN, J.; JUGE, N.; JACOB, R.; NAIM, H.Y.; WILLIAMSON, G.; SWALLOW, D.M.; KROON, P.A. Deglycosylation by small intestinal epithelial cell  $\beta$ -glucosidase is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. **European Journal of Nutrition**, v.42, p.29-42, 2003.

NIELSEN, F.H.; LUKASKI, H.C. Update on the relationship between magnesium and exercise. **Magnesium Research**, v.19, p.80-9, 2006.

NIEMAN, D.C.; WILLIAMS, A.S.; SHANELY, R.A.; McANULTY, S.R.; TRIPLETT, N.T.; AUSTIN, M.D.; HENSON, D.A. Quercetin's influence on exercise performance and muscle mitochondrial biogenesis. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v.42, n.2, p.338-345, 2010.

NYBO, L.; DALSGAARD, M. K.; STEENBERG, A.; MOLLER, K.; SECHER, N.H. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. **Journal of Physiology**, v. 563.1, p. 285-290, 2005.

NYBO, L.; RASMUSSEN, P. Inadequate cerebral oxygen delivery and central fatigue during strenuous exercise. **Exercise Sports Science Reviews**, v.35. n.3, p.10-118, 2007.

NORTON, K.; OLDS, T. **Antropométrica**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

OGINO, K.; KINUGAWA, T.; OSAKI, S.; KATO, M., ENDOH, A.; FURUSE, Y.; UCHIDA, K.; SHIMOYAMA, M.; IGAWA, O.; HISATOME I.; SHIGEMASA, C. Ammonia response to constant exercise: differences to the lactate response. **Experimental of Pharmacology and Physiology**. v.8, n.27, p.612-617, 2000.

OLDE-DAMINK, S.W.M.; DEUTZ, N.E.P.; DEJONG, C.H.C.; SOETERS, P.B.; JALAN, R. Interorgan ammonia metabolism in liver failure. **Neurochemistry International**, v.41, p.177-188, 2002.

OLSON, E.N.; WILLIAMS, R.S. Remodeling muscles with calcineurin. **Bioessays**. v.22, p.510-519, 2000.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.; DEEMER, E.K.; PRIOR, R.; HUANG, D. Novel fluorometric assay for hydroxyl radical prevention capacity using fluorescein as the probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 2772-2777, 2002.

ÖZER, B.H.; HUSEYIN, A.K. Functional milks and dairy beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v.63, n.1, p.1-15, 2010.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; HAWKIN, P.; TALCOTT, S.T. Phytochemical antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea Mart.*) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food Research International**, v. 40, p. 620-628, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; DUNCAN, C.E.; TALCOTT S.T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.115, p.1199-1205, 2009.

PACHECO-PALENCIA, L.A.; MERTENS-TALCOTT, S.U.; TALCOTT, S.T. In vitro absorption and anti-proliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açai fruit (*Euterpe oleracea Mart.*). **Food Chemistry**, v.119, p.1071-1078, 2010.

PANICKAR, K.S. Effects of dietary polyphenols on neuroregulatory factors and pathways that mediate food intake and energy regulation in obesity. **Molecular Nutrition and Food Research**. v.57, c.1, p. 34-47, 2013.

PANZA, V. S.; WAZLAWIK, E.; RICARDO SCHÜTZ, G.; COMIN, L.; HECHT, K. C.; DA SILVA, E. L. Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. **Nutrition**, v.24, p.433-442, 2008.

PEAKE, J.M.; SUZUKI, K.; COOMBES, J.S. The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.357-371, 2007.

PESCUMA, M.; HÉBERT, E.M.; MOZZI, F.; FONT DE VALDEZ, G. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, n. 1-2, p.73–81, 2010.

PILACZYNSKA-SZCZESNIAK, L.; SKARPANSKA-STEINBORN, A.; DESKUR, E.; BASTA, P.; HOROSZKIEWICZ-HASSAN, M. The influence of chocoberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.15, p.48-58, 2005.

PINCEMAIL, J.; LECOMTE, J.; CASTIAUX, J.; COLLART, E.; LIMET, R.; DEFRAIGNE, J. Evaluation of oxidative stress status in top soccer and basketball players. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v.16, n.3, p.168-70, 2001.

POIROUX-GONORD, F.; BIDEL, L.P.R.; FANCIULLINO, A.L.; GAUTIER, H.; LAURI-LOPEZ, F.; URBAN, L. Health Benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.12065-12082, 2010.

POMPEU, D.R.; SILVA, E.M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v.100, n. 23, p.6076-6082, 2009.

PORSZASZ, J.; CASABURI, R.; SOMFAY, A.; WOODHOUSE, L.J.; WHIPP, B. J. A treadmill ramp protocol using simultaneous changes in speed and grade. **Medicine Science in Sports and Exercise**, n. 35, p.1596-603, 2003.

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

POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S.S.; TALCOTT, S.T. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycones forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.1222-1229, 2006.

POWERS, S.K.; NELSON, W.B.; HUDSON, M.B. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. **Free Radical Biology & Medicine**, v.51, p.942-950, 2011.

PRADO, E.S.; de REZENDE NETO, J.M.; de ALMEIDA, R.D.; DORIA DE MELO, M.G.; CAMERON, L.C. Keto analogue and amino acid supplementation affects the ammonia response during exercise under ketogenic conditions. **British Journal of Nutrition**, v.16, n.105, p.1729-1733, 2011.

PRIOR, R.; GU, L. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. **Phytochemistry**, v.66, n.18, p.2264-2280, 2005.

RATHEE, P.; CHAUDHARY, H.; RATHEE, S.; RATHEE, D.; KUMAR, V.; KOHLI, K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. **Inflammation and Allergy-Drug Targets**, v.8, n.3, p.229-35, 2009.

REID, M.B. Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v.33, p.371-376, 2001.

RISTOW, M.; ZARSE, K.; OBERBACH, A.; KLÖTING, N.; BIRRINGER, M.; KIEHNTOPF, M.; STUMVOLL, M.; KAHN, C.R.; BLÜHER, M. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences in the U S A**. v.26, c.21, p.8665-70, 2009.

ROGEZ, H. **Açaí**: preparo, composição e melhoramento da conservação. Universidade Federal do Pará. Belém, PA, 2000. [288 pp.]

ROSCOE, M.H. The estimation of creatinine in serum. **Journal of Clinical Pathology**, v.6, n.3, p. 201-207, 1953.

ROSSO, V.V. de; HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E.C.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of anthocyanins from acerola *Malpighia marginata* (DC.) and açaí *Euterpe oleracea* (Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, p.291-299, 2008.

ROUSSEAU, A.S.; MARGARITIS, I.; ARNAUD, J.; FAURE, H.; ROUSSEL, A.M. Physical activity alters antioxidant status in exercising elderly subjects. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.17, n.7, 463-470, 2006.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. **EMBRAPA Agroindústria Tropical Comunicado Técnico on-line**, v. 128, 2007.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p. 996-1002, 2010.

RUSSELL, M.; BENTON, D.; KINGSLEY, M. Influence of carbohydrate supplementation on skill performance during a soccer match simulation. **Journal of Science and Medicine in Sports**, v.15, p. 348-354, 2012.

SANTOS, M.T.; VALLES, J.; AZNAR, J.; VILCHES, J. Determination of plasma malondialdehyde-like material and its clinical application in stroke patients. **Journal of Clinical Pathology**, v.33, p.973-976, 1980.

SCHAUSS, A.G.; WU, X.; PRIOR, R.L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.8598-8603, 2006a.

SCHAUSS, A.G.; WU, X.; PRIOR, R.L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G.S.; HART, A.N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea Mart.* (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.8604-8610, 2006b.

SCHULZ, H.; HERMANN, H. Glycogen Depletion As Indication for Ammonia determination in exercise testing. **European Journal of Sports Science**, v.3, n.3, p. 1-9, 2003.

SCHIEBER, A. Functional foods and nutraceuticals. **Food Research International**, v.46, p.437, 2012.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-58, 1965.

SIRI, W.E. Body Composition from fluid spaces and density. In: BROZEK, J.; HENSCHEL, A. (ed). **Techniques of measuring body composition**. Washington DC: National Academy of Science, 1961. [p. 233-244].

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food, product development, marketing and consumer acceptance. A review. **Appetite**, v.51, p.456-467, 2008.

SOUZA, M.O. de; SILVA, M.; SILVA, M.E.; OLIVEIRA DE PAULA, R.; PEDROSA, M.L. Diet supplementation with açai (*Euterpe oleracea Mart.*) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v.26, p. 804-810, 2010.

SPADA, P. D.; DANI, C.; BORTOLINI, G. V.; FUNCHAL, C.; HENRIQUES, J. A.; SALVADOR, M. Frozen fruit pulp of *Euterpe oleraceae Mart* (Acai) prevents hydrogenperoxide-induced damage in the cerebral cortex, cerebellum, and hippocampus of rats. **Journal of Medicinal Food**, v.12, p.1084-1088, 2009.

STONER, G.D., WANG, L.-S., SEGUIN, C., ROCHA, C., STONER, K., CHIU, ST., KINGHORN, A.D. Multiple berry types prevent N - nitrosomethylbenzylamine induced esophageal cancer in rats. **Pharmaceutical Research**, v.27, p.1138-1145, 2010.

STEWART, I.B.; STEWART, K.L. Energy balance during two days of continuous stationary cycling. **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v.4, n.15, p.1-6, 2007.

SZAKÁLY, Z; SZENTE, V., KÖVÉR, G., POLERECZKI, Z., SZIGETI, O. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. **Appetite**, v.58, n.1, p.406-413, 2012.

TANSKANEN, M.M.; UUSITAO, A.L.; KINNUNEN, H.; HÄKKINEN, K.; KYRÖLÄNEN, H.; ATALAY, M. Association of military training with oxidative stress and

overreaching. **Medicine Science in Sports and exercise**, v.43, n.8, p.1552-1560, 2011.

TIPTON, K.D.; WITARD, O.C. Protein requirements and recommendations for athletes: relevance of ivory tower arguments for practical recommendations. **Clinical in Sports Medicine**, v.26, p.17-36, 2007.

THEROND, P.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; DAVIT-SPRAUL, A.; CONTI, M.; LEGRAND, A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolism Care**, v.3, p.373-384, 2000.

TORRES, B.B.; CARVALHO, A.Z.; BIANCO, A.A.G.; BETON, D.; TEJADA, E.C.S.; DA SILVA, F.H.L.; RIBICHICH, K.F.; RODIGUES, L.O.; MIYAMOTO, S. KOIDE, T. **Nutrição e esporte: uma abordagem bioquímica**. Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, USP, 2003. 197pp.

TUCUNDUVA, S.P. **Virtual nutriplus for Web**, version 1.0. Rio de Janeiro: Keeple Consultoria e Software Ltda, 2012. Disponível em <[www.virtualnutriplus.com.br](http://www.virtualnutriplus.com.br)> <Acesso em 03 de março de 2012>.

TUROCY, P.S.; PEPALMA, B.F.; HORSWILL, C.A.; LAQUALE, K.M.; MARTIN, T.J.; PERRY, A.C.; SOMOVA, M.J.; UTTER, A.C. National Athletic Trainers' Association Position Statement: Safe Weight Loss and Maintenance Practices in Sport and Exercise. **Journal of Athletic Training**. v.46, p.322-336, 2011.

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v.189, n.1-2, p.41-54, 2003.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v.111, n.4, p.816-823, 2008.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F; MOURA, B.F; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S. espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, 1323-1338, 2007.

VASSILAKOPOULOS, T.; ROUSSOS, C.; ZAKYNTHINOS, S.; When are antioxidants effective in blunting the cytokine response to exercise? **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.37, p.342-343, 2005.

VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.46, p.4113-4117, 1998.

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

XIE, C.; KANG, J.; LI, Z.; SCHAUSS, A.G.; BADGER, T.M.; NAGARAJAN, S.; WU, T.; WU, X. The açai flavonoid velutin is a potente anti-inflammatory agente: blockade



of LPS-mediated TNF- $\alpha$  and IL-6 production through inhibiting NF- $\kappa$ B activation and MAPK pathway. **Journal Nutritional Biochemistry**, v.23, p.1184-1191, 2012.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B.J.; KOYL, S.N.; BEAVER, W.L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 35, n.2, p.236-243, 1973.

WELLS, G.D.; NORRIS, S.R. Assessment of physiological capacities of elite athletes & respiratory limitations to exercise performance. **Paediatric Respiratory Reviews**, v.10, n.3, p.91-98, 2009.

WHITE JA, HART RJ, FRY JC. An Evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials. **Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p.170-177, 1986.

WILKINSON, D.J.; SMEETON, N.J.; WATT, P.W. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link. **Progress in Neurobiology**, v.91, p.200-219, 2010.

YI, L.; CHEN, C.; JIN, X.; MI, M.; YU, B.; CHANG, H.; LING, W.; ZHANG, T. Structural requirements of anthocyanins in relation to inhibition of endothelial injury induced by oxidized low-density lipoprotein and correlation with radical scavenging activity. **FEBS-letters**, v.584, p.583-590, 2010.

ZAKYNTHINOS, S.; KATSAOUNOU, P.; KARATZA, M.H.; ROUSSOS, C.; VASSILAKOPOULOS, T. Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxichypercapnia. **American Journal of Critical Care Medicine**, v.175, p. 62-68, 2007.

ZHAO, S.; SNOW, R. J.; STATHIS, C. G.; FEBBRAIO, M. A.; CAREY, M. F. Muscle adenine nucleotide metabolism during and in recovery from maximal exercise in humans. **Journal of Applied Physiology**, v.88, p.1513-1519, 2000.

ZOPPI, C.C.; HOHL, R.; SILVA, F.C.; LAZRIM, F.L.; NETO, J.M.; STANCANELLI, M.; MACEDO, D.V. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v.13, p.37-44, 2006.

## Apêndice A



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA COM SERES HUMANOS

#### PROJETO DE DOUTORADO:

#### **Avaliação Sensorial de bebida energética funcional**

**RESPONSÁVEL PELA PESQUISA: Doutoranda Jacqueline Carvalho Peixoto**

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** A utilização de bebida energética por atletas é interessante em condições onde o indivíduo está sob forte estresse físico. Na literatura já está bem estabelecido o papel dos açúcares no metabolismo de indivíduos que treinam regularmente, porém a utilização de bebidas energéticas adicionadas de compostos terapêuticos, como polpas de frutos ricos em substâncias antioxidantes pode ser uma boa alternativa nutricional para controlar alterações em exames bioquímicos que possam prejudicar o rendimento e saúde de atletas. Contudo, torna-se necessário avaliar o efeito da bebida no organismo de atletas, sem prejuízos para a aceitação do produto, pelo possível consumidor do suplemento. Compostos bioativos de frutas quando adicionados nas concentrações corretas são capazes de conferir benefícios à saúde de quem os ingere, através da melhora da resistência imunológica e da fadiga.

**PROCEDIMENTO:** Quatro amostras serão destinadas a teste de aceitação sensorial que serão avaliadas por 40 provadores não-treinados. Os produtos serão servidos em copos plásticos transparentes de 50 mL e avaliados pelo provador quanto à aceitação e intenção de compra. O provador deverá experimentar as amostras e responder as perguntas de um questionário com variações de gostar em escala de 1 a 9 que será entregue juntamente com a amostra. O provador terá, durante a execução da análise, toda a liberdade para questionamento e esclarecimento de qualquer dúvida sobre a pesquisa a ser realizada, bem como poderá deixar de participar a qualquer tempo, sem prejuízos ao mesmo. A equipe deixa claro ao provador que não há risco previsível com a sua participação na pesquisa, a menos que o provador tenha diabetes, alergia e ou intolerância ao açaí e frutas cítricas, devendo o mesmo informar previamente à equipe responsável pela pesquisa. Além disso, a equipe assegura que os dados de identidade fornecidos são confidenciais e sigilosos.

Membros da Equipe:

JACQUELINE CARVALHO PEIXOTO

FONE: (21) 78302319,8412-0001

MIRIAN RIBEIRO LEITE MOURA (Orientador)

FONE: (21) 25626378

ROBERTO MARCÍLIO (Pesquisador Colaborador)

ALESSANDRA TABANELLA (Pesquisador Colaborador)

STEPHANIE KROLL e REBECA CATANHEDE (alunas de Iniciação Científica)

**Comitê de Ética em Pesquisa em caso de reclamações:**

Rua: Rodolpho Paulo Rocco, 255 21 Cep 21941-913 Ilha do Fundão- RJ Fone (021) 2293-8148

ramal:228 [www.eean.ufrj.br/cep](http://www.eean.ufrj.br/cep)

Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura do responsável pela pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura do provador: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_



## Universidade Federal do Rio de Janeiro

### Ficha de avaliação sensorial Bebida energética a base de açai

#### Avaliação Sensorial da Bebida

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 1) Após provar individualmente cada amostra oferecida, faça um círculo no número que corresponde a sua preferência.
- 2) Avalie a amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto

Sabor

Cor

1	Desgostei muitíssimo	1	Desgostei muitíssimo
2	Desgostei muito	2	Desgostei muito
3	Desgostei regularmente	3	Desgostei regularmente
4	Desgostei ligeiramente	4	Desgostei ligeiramente
5	Indiferente	5	Indiferente
6	Gostei ligeiramente	6	Gostei ligeiramente
7	Gostei regularmente	7	Gostei regularmente
8	Gostei muito	8	Gostei muito
9	Gostei muitíssimo	9	Gostei muitíssimo

Você compraria/ consumiria este produto?      ( ) Sim      ( ) Não

Comentário \_\_\_\_\_

UFRJ-Faculdade de Farmácia-LabCBroM  
Doutoranda Jacqueline C. Peixoto



Ficha de avaliação sensorial  
Bebida energética a base de açaí

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Modalidade esportiva: \_\_\_\_\_

1) Quanto você gostou ou desgostou de cada amostra? **De modo geral, por favor indique o quanto você gostou ou desgostou, utilizando a escala hedônica abaixo:**

- 
- 9 - Gostei extremamente (Adorei)
  - 8 - Gostei muito
  - 7 - Gostei moderadamente
  - 6 - Gostei ligeiramente
  - 5 - Nem gostei/Nem desgostei
  - 4 - Desgostei ligeiramente
  - 3 - Desgostei moderadamente
  - 2 - Desgostei muito
  - 1 - Desgostei extremamente (Detestei)
- 

Amostra	Cor	Sabor	Impressão global
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

2- Com base em sua opinião sobre esta amostra de **BEBIDA**. Indique na escala abaixo, sua atitude se você encontrasse esta amostra à venda. Se eu encontrasse esta Bebida à venda eu:

- 5. Certamente compraria
- 4. Possivelmente compraria
- 3. Talvez comprasse / talvez não comprasse
- 2. Possivelmente não compraria
- 1. Certamente não compraria

Amostra	Sim	Não
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )
_____	( )	( )



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
 Faculdade de Farmácia  
 Laboratório de Controle Bromatológico e Microscópico



#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**“Desenvolvimento de bebida energética funcional para redução do estresse oxidativo e muscular em indivíduos treinados”**

- **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:** Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), da pesquisa que testará uma bebida energética a base de açaí para avaliar seu grau de eficácia na redução de marcadores bioquímicos de estresse muscular e celular (oxidativo) induzido por exercício. Em caso de concordância em participar, favor assinar ao terminar de ler o documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a instituição. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador (a) principal, podendo tirar suas dúvidas em relação ao projeto e também sobre sua participação. NOME DA PESQUISA: Desenvolvimento de bebida energética funcional para redução do estresse oxidativo em indivíduos treinados.
- **PESQUISADOR (A) RESPONSÁVEL:** Doutoranda Jacqueline Carvalho Peixoto-FF/UFRJ
- **ENDEREÇO:** Rua Lopes Quintas 309, apto 201 – Jardim Botânico, Rio de Janeiro/RJ, CEP: 22460010 TELEFONE: (21) 3173-6009 (casa); 2562-6378 (LabCBroM/DPNA/UFRJ); email-jacquelp@uol.com.br Se você tiver alguma consideração sobre ética em pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)- Sala 01D, 46, 1º andar; tel:2562-248; email: cep@hucff.ufrj.br **PESQUISADORES PARTICIPANTES:** Profa Dra Mirian Ribeiro Leite Moura – FF-UFRJ, Profa Dra Nancy do Santos Barbi, Profa Dra Priscila Finotelli – FF-UFRJ; Profa Dra Mônica Freiman de Souza Ramos, Profa Dra Helena Keiko Toma; Prof Dr Paulo de Tarso Veras Farinatti- IEDF/UERJ, Lara de Azevedo Sarmet Moreira Smiderle- bolsista de iniciação à pesquisa FF/UFRJ.
- **JUSTIFICATIVA:** Atualmente o mercado de alimentos funcionais vem alcançando notoriedade visto os aspectos terapêuticos destes alimentos para a saúde. Desenvolver alimentos funcionais para atletas se torna, portanto, interessante já que a elaboração e o uso destes suplementos poderão aumentar a energia e reduzirem os radicais livres de oxigênio que são produzidos em excesso em atividades extenuantes praticadas por indivíduos que treinam regularmente nas mais variadas regiões do nosso país. A aceitabilidade da bebida elaborada será fundamental para manter a realização do estudo que visa comprovar a eficácia da bebida na redução do estresse físico e celular de atletas. Em contrapartida, a bebida representará possibilidade de se agregar maior valor nutritivo ao suplemento energético funcional ou terapêutico e ser também, mais uma opção de comercialização de bebida energética a base de açaí, considerado um fruto funcional, o que a tornará diferenciada no mercado em função de sua atividade antioxidante, possivelmente reduzindo a acidose tecidual durante atividades intensas.
- **OBJETIVOS:** Desenvolver bebida energética funcional para a redução do estresse muscular e celular em indivíduos treinados a partir de sua utilização antes e após treinamento aeróbico intenso (corrida em campo).
- **PROCEDIMENTOS DO ESTUDO:** Caso você concorde em participar da pesquisa, terá de responder a um questionário sobre hábitos alimentares e recordar a ingestão alimentar em até três dias através de protocolo de recordatório alimentar. Também deve estar disponível em participar do teste de aceitação da bebida, realizar avaliação antropométrica (medidas corporais), de aptidão cardiorrespiratória (análise das trocas gasosas através o uso de ergoespirômetro), bem como para realizar análises hematológicas (exame de sangue) e bioquímicas (exames de marcadores de estresse muscular e celular). Você inicialmente testará a bebida energética funcional através de teste de aceitação em escala de nove pontos (qualitativa) para saber o quanto gostaram ou desgostaram da bebida (em anexo) para

descrever a característica global da bebida quanto aos atributos cor, aroma e sabor. As amostras das bebidas serão codificadas com número de três dígitos. Também serão realizados avaliação física para aferição de peso, estatura e dobras cutâneas, teste de aptidão cardiorrespiratória através da análise do consumo de oxigênio por ergoespirômetro, além de exames de sangue e parasitológico (fezes), antes do teste de corrida em campo para avaliar seu estado de saúde. A bebida funcional será utilizada após estas análises prévias, antes e depois de teste de corrida em campo previamente estabelecido para saber sua efetividade na redução de marcadores bioquímicos de estresse muscular e celular (oxidativo). Sua efetividade será comparada a bebida energética controle existente no mercado, cuja composição básica são açúcares, porém terá sabor e cor similar ao da bebida experimental.

- **RISCOS E DESCONFORTOS:** Não haverá riscos contra sua saúde durante a análise de aceitação da bebida por tratar-se de um suplemento energético a base de açúcares, suco cítrico e açaí. A bebida será formulada dentro dos padrões microbiológicos e tecnológicos preconizados pela legislação nacional de alimentos e similar aos encontrados no mercado varejo. O produto por conter açaí pode apresentar sabor forte, diferente e poderá não agradar. Quanto aos testes físicos não ocorrerá qualquer grau de risco, possivelmente fadiga após o teste cardiorrespiratório. Os exames de sangue são fundamentais para detecção dos fenômenos metabólicos e celulares que serão estudados. Estes serão realizados com agulha, através de sistema à vácuo (rápida retirada de sangue em torno de 5 a 10 mL à vácuo). Durante a coleta poderão ocorrer: dor, vermelhidão local, sangramento leve, caso haja transtornos mecânicos durante a realização da análise sanguínea, porém, estes procedimentos serão acompanhados por equipe de saúde especializada no local do estudo (médicos, farmacêuticos, nutricionistas, enfermeiros), o que será seguro e não trará riscos à sua saúde. O diagnóstico final será realizado por equipe médica do Laboratório Álvaro e Sérgio Franco em parceria com os profissionais do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ.
- **RESPONSABILIDADE DOS PESQUISADORES.** Caberá aos pesquisadores responsáveis (coordenador e participantes) a inteira responsabilidade pelos resultados, positivos ou não, da pesquisa.
- **CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE:** Não haverá nenhum gasto com sua participação. Você também não receberá nenhum pagamento com a sua participação.
- **BENEFÍCIOS:** Você poderá contribuir para a possível inserção do produto no mercado e de sua comercialização futura. Por outro lado, os resultados a partir da resposta metabólica com o consumo da bebida poderão contribuir para ampliação dos estudos sobre o metabolismo no exercício e a importância da utilização de suplementos energéticos funcionais para indivíduos treinados, cuja proposta será a de controlar o estresse muscular e celular induzido por atividades extenuantes.
- **LIBERDADE PARA SE RECUSAR A PARTICIPAR OU RETIRAR SEU CONSENTIMENTO:** Estou livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa e que não preciso apresentar justificativas para isso.
- **INDENIZAÇÃO, RESSARCIMENTO OU PATENTE:** Não terei quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. **CONTATO EM CASO DE NECESSIDADE.** Posso consultar os pesquisadores responsáveis em qualquer época, pessoalmente ou por telefone, para esclarecimento de qualquer dúvida. **CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA:** Todas as informações fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e que só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas sem a sua identificação.
- Nome do pesquisador \_\_\_\_\_
- Assinatura do Pesquisador Responsável: \_\_\_\_\_
- Nome do participante: \_\_\_\_\_
- Assinatura: \_\_\_\_\_
- Rio de Janeiro: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_.

**Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde/CNS. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa/CONEP; Folha de rosto-FR: 356938.**





## Apêndice E

### EXAME FÍSICO

#### DOBRAS CUTÂNEAS

HOMENS	
DCT (TRICIPTAL) .....	mm
COXA .....	mm
UMBILICAL .....	mm
Total.....	mm
ILÍACA .....	mm
PCB (bíceps) .....	mm
AXILAR / PEITORAL .....	mm
SUBESCAPULAR .....	mm
PANTURRILHA .....	mm
Total .....	mm
<b>% de gordura</b>	

MULHERES	
DCT (TRICIPTAL) .....	mm
COXA .....	mm
ILÍACA .....	mm
Total.....	mm
UMBILICAL .....	mm
PCB (bíceps) .....	mm
AXILAR / PEITORAL .....	mm
SUBESCAPULAR .....	mm
PANTURRILHA .....	mm
Total .....	mm
<b>% de gordura</b>	

#### CIRCUNFERÊNCIAS

TÓRAX .....	cm
CINTURA .....	cm
ABDOME .....	cm
QUADRIL .....	cm
COXA d/e.....	cm
BRAÇO d/e.....	cm

DATA \_\_\_\_/\_\_\_\_/201



## Apêndice F



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO- UFRJ  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

RECORDATÓRIO HABITUAL      DATA: \_\_\_\_\_ DIA 1 ( ) 2 ( ) 3 ( )  
 NOME: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Kg: \_\_\_\_\_ Estatura: \_\_\_\_\_  
 MODALIDADE ESPORTIVA: \_\_\_\_\_ TREINO: \_\_\_\_\_  
 RESPONSÁVEL COMPRA: \_\_\_\_\_ PREPARO: \_\_\_\_\_

Refeição / Horário	Alimento	Quantidade	Medida caseira
DESJEJUM Horário:			
COLAÇÃO Horário:			
ALMOÇO Horário:			
LANCHE Horário:			
JANTAR Horário:			
CEIA Horário:			
LANCHE EXTRA Horário:			

## Apêndice G

Curvas de calibração elaboradas para as análises respectivamente de: fenólicos totais e DPPH (padrão ácido gálico) no açaí liofilizado e bebidas (Gráficos a, b, c). Houve bom ajuste para os experimentos (99%), segundo os valores dos coeficientes de determinação observados para as análises (0,9990; 0,9919,  $p < 0,001$ ).

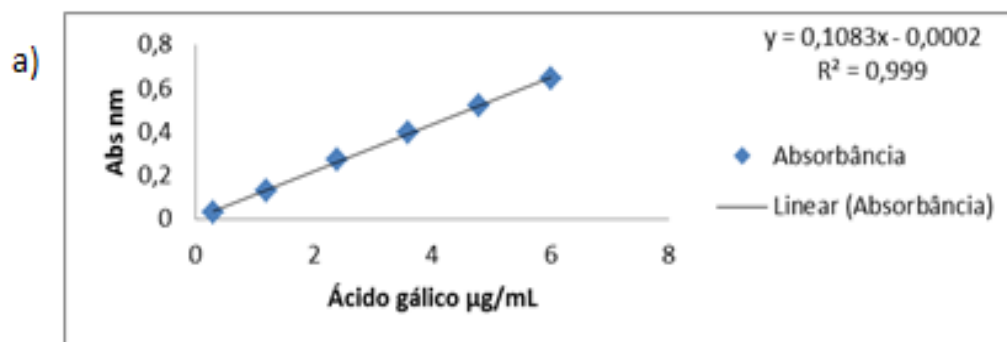


Gráfico a Curva de calibração do ácido gálico ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) para análise de fenólicos totais no açaí liofilizado.

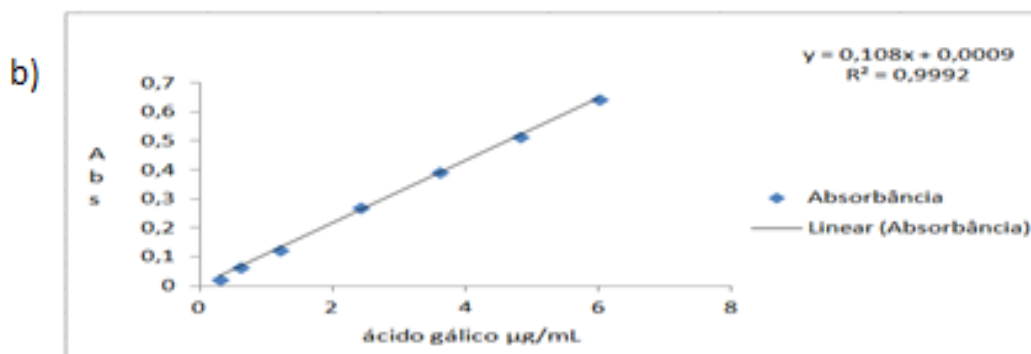


Gráfico b Curva de calibração do ácido gálico para análise de fenólicos totais nas bebidas.

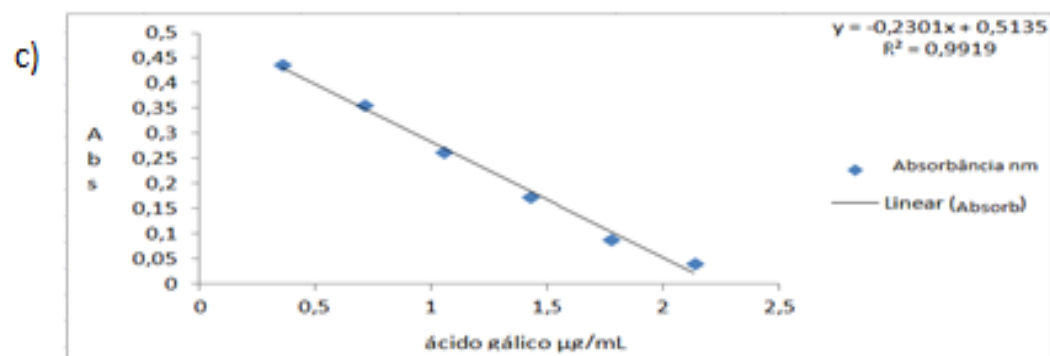
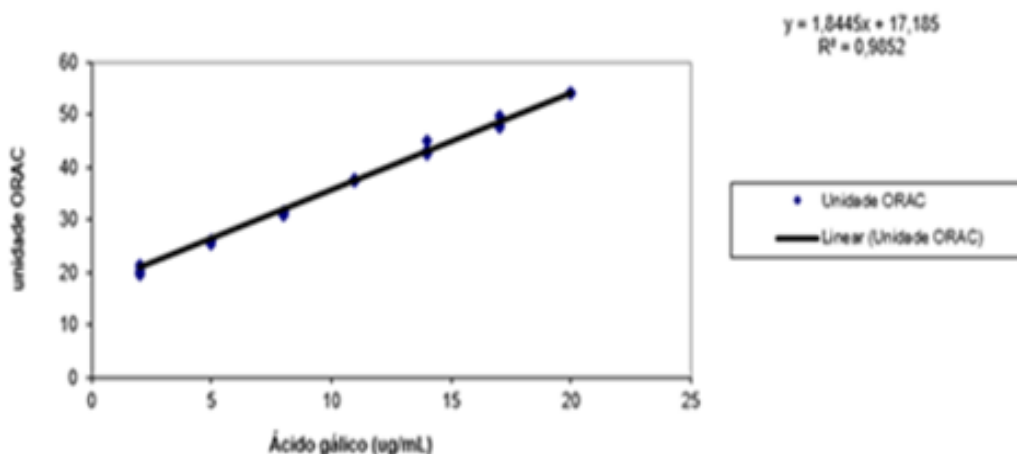


Gráfico c Curva de calibração do ácido gálico ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  EAG) para análise de DPPH no açaí liofilizado e bebidas.

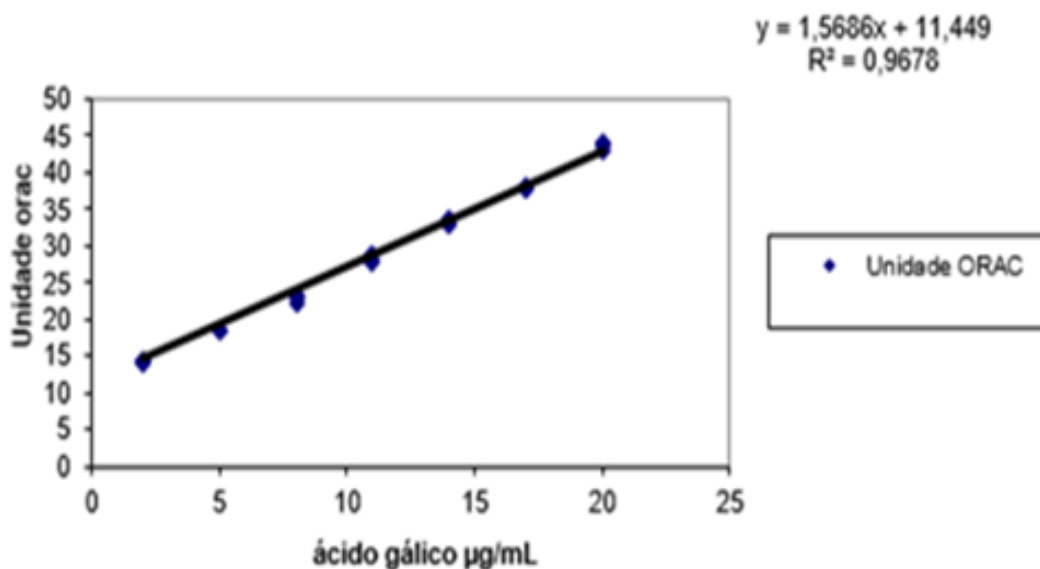
## Apêndice H

Curvas de calibração elaboradas para as análises de ORAC-FL (padrão ácido gálico) no açaí liofilizado e bebidas (Gráficos d / e). Houve bom ajuste para as análises, resultando em boa qualidade dos experimentos (Padrão ácido gálico-  $y = 1,8445x + 17,185$ ,  $R^2 = 0,9852$ ;  $y = 1,5686x + 11,449$ ,  $R^2 = 0,9678$ )

d)



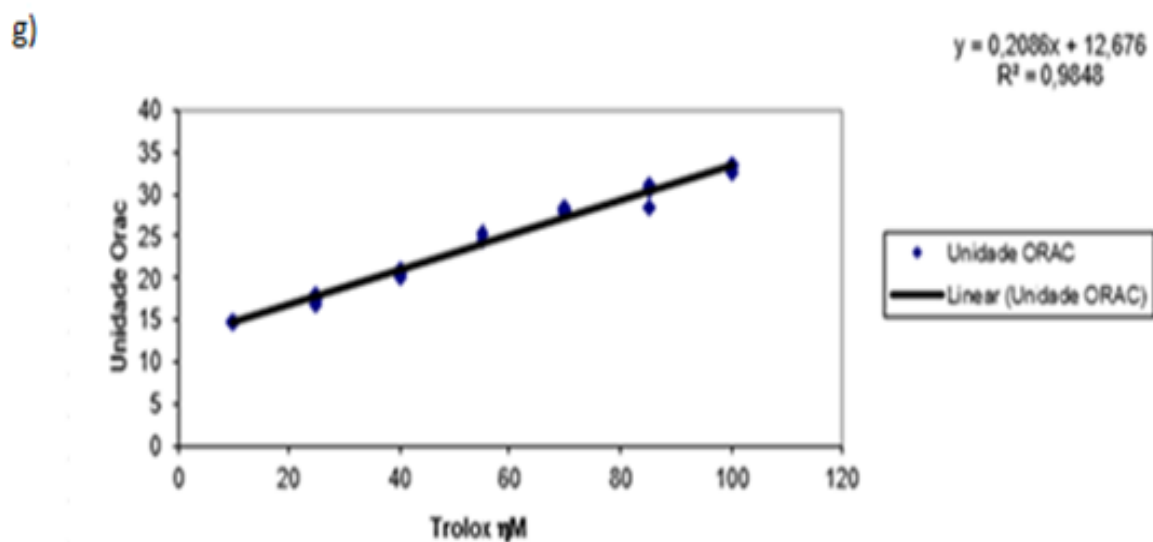
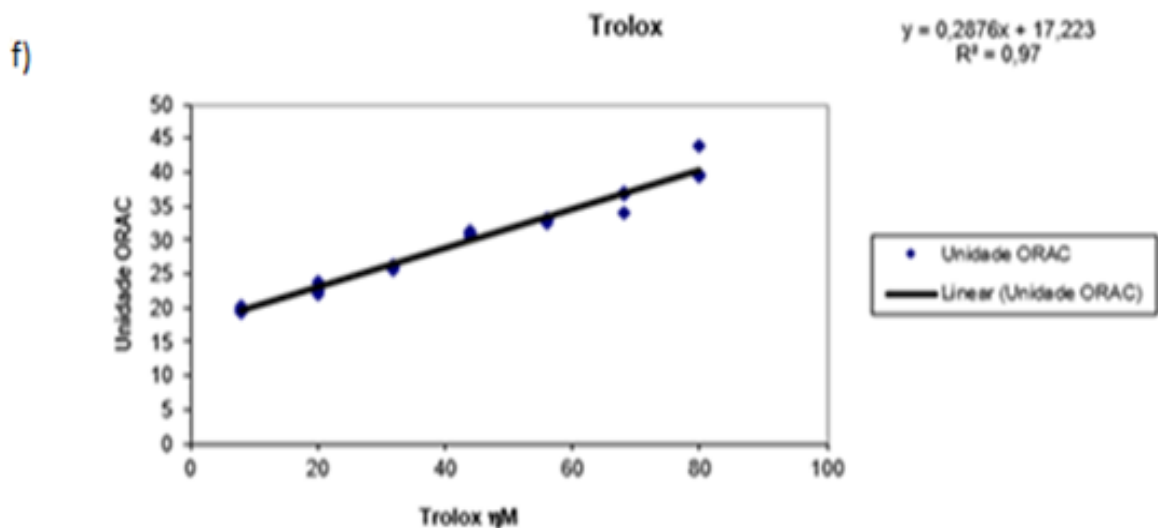
e)



**Gráficos (d / e)** - Curvas de calibração para o padrão ácido gálico (20 µg/mL), método ORAC, nas bebidas e açaí liofilizado, respectivamente (n=3 e n=8).

## Apêndice I

Curvas de calibração elaboradas para as análises de ORAC-FL (padrão trolox) no açaí liofilizado e bebidas (Gráficos f / g). Houve bom ajuste das análises, resultando em boa qualidade dos experimentos (Padrão Trolox:  $y = 0,2876x + 17,223$ ,  $R^2 = 0,97$ ;  $y = 0,2086x + 12,676$ ,  $R^2 = 0,9848$ ).



**Gráfico f / g-** Curvas de calibração do padrão Trolox (80 e 100  $\mu\text{M}$ ), para o método ORAC nas amostras de açaí liofilizado e bebidas ( $n=3$ ;  $n=8$ )

## ANEXO A

### Registro da polpa de açaí

*Musan*

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO  
 SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA  
 SUPERINTENDÊNCIA FEDERAL DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

REGISTRO DE PRODUTO

Certifico que esta devidamente registrado neste Ministério  
 sob o Nro.: PA-07573 00002-2

O Produto: ACAÍ MEDIO OU REGULAR

MARCA: AMAZONIA ENERGY

Concedido: 09/09/2010 Pro.No.: 21030.002046/2010-55

Apresentado pelo Estabelecimento:

AMAZONIAN HEALTH - INDUSTRIA E COMERCIO DE POLPAS LTDA

C.N.P.J No.: 09.000.110/0001-29 Insc. Estadual No.: 15.302.029-6

Localizado a: RODOVIA ARTHUR BERNARDES, 5925

Bairro: TAPANÁ

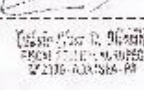
Município: Belém UF: PA

Atendidos que foram os dispositivos regulamentares em vigor.

ESTE REGISTRO TEM VALIDADE POR 10 (DEZ) ANOS A PARTIR DA DATA DE CONCESSÃO OU DA DATA DE RENOVACÃO.

Belém, 03 de Setembro de 2010

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO  
 ESTADO DO PARÁ  
 PFA Acuopara/Belém / IPA  
 PRODUTO FISCALIZADO  
 Data: 18/11/10  
 Matrícula: [assinatura]  
 Assinatura





UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho  
Faculdade de Medicina  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Coordenadora:

Alice Helena Dutra Violante  
Médico - Prof. Associada

Membros Titulares:

- Dulce Nery Alves de Brito  
Anuoplogista - Prof. Associada  
 Elina Regina Amorim  
Assistente Social - Mestre  
 Elvira Vasconcelos  
Representante dos Usuários  
 Lídia de Carvalho de Araújo Rodrigues  
Farmácia - Mestre  
 Vânia de Souza  
Biólogo  
 Maria Tereza Araújo  
Farmacêutico - Especialista  
 Valéria Conceição Fernandes  
Médico - Prof. Adjunta  
 Patrícia de Moraes  
Médico - Prof. Associada  
 Roberto Gury de Souza  
Médico - Doutor  
 Roberto de Almeida  
Médico - Prof. Titular  
Membros Suplentes:  
 Rosa Maria Trindade de Moraes  
Nutricionista - Doutora em Saúde  
 Daniela Maria Topp  
Médico - Doutor  
 Carlos Alberto Calvo  
Médico - Prof. Associado  
 Ana Raquel Rocco Sazonara  
Assistente Social  
 Luciana Maria de Sousa Almeida  
Médico - Mestre  
 Gilson Roberto Macedo Soares  
Médico - Prof. Associado  
 Maria Daniela Lima de Sousa  
Representante dos Usuários  
 Roberto Conceição Lopes  
Assistente Social  
 Aringilene Oliveira de Souza  
Biólogo  
 Edilei Jean-Michel de  
Souza - Prof. Adjunto  
 Nivaldo Henrique de Sousa  
Médico - Professor Adjunto  
 Joana Maria Viana Rodrigues  
Assistente Social - Professora Adjunta  
 R. L. Batista  
Médico - Prof. Adjunto

CEP - MEMO - n.º 862/10

Rio de Janeiro, 18 de novembro de 2010.

Da: Coordenadora do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Prof.ª Jaqueline Carvalho Peixoto

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa.

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. Sa. que o CEP, constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo de pesquisa páginas 001 a 026 e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 112/10 - CEP

Título: "Desenvolvimento de bebida energética funcional para redução do estresse oxidativo em indivíduos treinados".

Pesquisador (a) responsável: Prof.ª Jaqueline Carvalho Peixoto

Data de apreciação do parecer: 04/11/2010

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 04/05/2011, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII, 13.d., da Resolução n.º 196/96 - CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof.ª Alice Helena Dutra Violante  
Coordenadora do CEP