

ARIANE VOLTOLINI PAIÃO

**EFEITO DA INGESTÃO AGUDA DO SUCO DE LARANJA SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS E COM
EXCESSO DE PESO**

ARARAQUARA – SP

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO AO CURSO DE
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA-BIOQUÍMICA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS DE ARARAQUARA, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL
PAULISTA PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE FARMACÊUTICA-BIOQUÍMICA

**EFEITO DA INGESTÃO AGUDA DO SUCO DE LARANJA SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS E COM EXCESSO DE PESO**

Aluna: Ariane Voltolini Paião

Orientadora: Profa. Dra. Thais Borges César

Coorientadora: Aline Cardoso Paiva

Araraquara

2013

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Bernadetti e Pedro, por terem me ensinado a ver a vida com paciência e coragem, a levar os problemas com leveza e a nunca desistir dos meus objetivos. Muito Obrigada por acreditarem nos meus sonhos e por ajudar a torná-los realidade. Vocês são o meu exemplo, o meu orgulho e a minha força.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar sempre serenidade, oportunidades e por iluminar minhas escolhas e o meu caminho.

À minha família, meus pais e minha irmã Vitória, por todo o apoio que sempre me deram, pela confiança, pelo amor incondicional e, acima de tudo, pela compreensão em todos os momentos.

À Prof^a. Dra. Thais Borges César, pela confiança, pela orientação do trabalho e pelo tempo dedicado.

À Ana Lúcia Nasser pela ajuda na realização das análises, pela paciência e pelas explicações.

À Aline Cardoso Paiva pela orientação e pela ajuda mesmo à distância.

Às amigas que me acompanharam desde o começo, Éllen B., Flávia N., Maisa I. e Simone Y., que dividiram comigo todos os momentos, participaram das melhores histórias e construíram uma amizade que vou levar para sempre no coração.

Aos amigos que se tornaram especiais ao longo dos anos, Adriana I., Diego K., Leticia S., Mariana U., Taísa F., aos que encontrei no final, Gabriela, Karina e Maria Fernanda, à todos que de perto fizeram esses anos serem inesquecíveis e aos que mesmo de longe sempre fizeram parte da minha vida.

À todos os voluntários do estudo pela colaboração na realização deste trabalho e especialmente aos amigos, Diego T., Guilherme C., Gustavo C., Luan M. e Victor L.

À todos os funcionários da faculdade que de alguma forma ajudaram na realização do projeto.

À PIBIC/Reitoria pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1. Introdução	9
2. Objetivos	10
2.1. Avaliação Antropométrica	10
2.2. Avaliação de variáveis do estresse oxidativo no soro sanguíneo	10
3. Desenvolvimento	11
3.1. Casuística	11
4. Métodos	12
4.1. Desenho Experimental	12
4.2. Avaliação Antropométrica	15
4.3. Avaliação da Peroxidação Lipídica (TBARS)	17
4.4. Avaliação da capacidade antioxidante (ABTS)	18
5. Análise Estatística	20
6. Resultados e Discussão	21
6.1. Avaliação Antropométrica	21
6.2. Avaliação do Estresse Oxidativo	24
7. Conclusões	29
8. Referências Bibliográficas	30
9. Apêndices	33

RESUMO

Estudos clínicos e experimentais têm mostrado que o suco de laranja apresenta propriedades antioxidantes que estão associadas com a redução do risco para doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito antioxidante e anti-peroxidação lipídica após a ingestão aguda dos sucos de laranja fresco, pasteurizado e da bebida controle no soro sanguíneo de voluntários eutróficos e com excesso de peso. A avaliação da capacidade antioxidante no soro sanguíneo foi feita pelo método ABTS e a peroxidação lipídica, pela presença de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os voluntários ingeriram a quantidade de 5mL/kg de peso corporal de suco fresco, pasteurizado e da bebida controle. Após o período experimental foi observado um aumento do teor de substâncias antioxidantes (ABTS) e uma redução da peroxidação lipídica (TBARS) no soro, mostrando que os sucos de laranja, fresco e pasteurizado, tiveram efeito protetor contra o estresse oxidativo, sugerindo que o processamento dos sucos não comprometeu os compostos com atividade antioxidativa e anti-peroxidação lipídica responsáveis pela redução do estresse oxidativo. Além disso, não houve diferença nas variáveis analisadas (TBARS e ABTS) entre os indivíduos eutróficos e com excesso de peso. Concluiu-se que a ingestão aguda do suco de laranja fresco e pasteurizado promoveu um efeito protetor contra o estresse oxidativo em indivíduos eutróficos e naqueles com excesso de peso.

Palavras chaves: suco de laranja, antioxidantes, estresse oxidativo, eutrofia, excesso de peso.

Lista de Figuras

Figura 1: Protocolo Experimental	13
Figura 2: Reação entre o MDA e o TBA	18
Figura 3: Estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	19
Figura 4: Valores de TBARS antes e após o tratamento com a bebida controle e com os sucos de laranja fresco e pasteurizado	26
Figura 5: Valores de ABTS antes e após o tratamento com a bebida controle e com e os sucos de laranja fresco e pasteurizado	26

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição energética e de nutrientes das bebidas testes usadas no estudo por porção	14
Tabela 2: Perfil antropométrico dos voluntários de acordo com o gênero e o IMC	22
Tabela 3: Marcadores do estresse oxidativo antes e depois do tratamento agudo com os sucos de laranja fresco, pasteurizado e com a bebida controle	25
Tabela 4: Relação de TBARS e ABTS de acordo com o estado nutricional dos voluntários após a ingestão do suco de laranja fresco, do suco de laranja pasteurizado e da bebida controle	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico

DP - Desvio Padrão

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

IMC - Índice de Massa Corporal

MDA - Malondialdeído

TBA - Ácido Tiobarbitúrico

TBARS - Substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TEAC - Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox

1. INTRODUÇÃO

O suco de laranja é reconhecidamente uma fonte importante de nutrientes essenciais, como a vitamina C, ácido fólico, potássio, carboidratos e flavonóides cítricos, sendo por isso considerado um alimento saudável (FAO, 2010; KLIMCZAK et al., 2007). O grupo dos flavonóides cítricos é amplo e composto por várias subclasses, dentre elas, as flavanonas, representadas pela naringina e pela hesperidina. A quantidade de flavanonas varia de acordo com a variedade do fruto, sua maturação, processamento, região geográfica, entre outros. Embora a vitamina C do suco de laranja possa ser degradada com a ação da luz, oxigênio e temperatura, as flavanonas apresentam uma alta estabilidade durante o armazenamento (KLIMCZAK et al., 2007).

Estudos clínicos e experimentais têm mostrado que os flavonóides do suco de laranja apresentam capacidade hipolipidêmica, hipotensora e anti-inflamatória, entre outras, reduzindo o risco para as doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer. Tais efeitos de proteção foram parcialmente atribuídos à ação antioxidante dos flavonóides (APTEKMAN & CESAR, 2010; NASSER et al., 2011; KAUR KAPOOR, 2001).

Apesar dos benefícios associados ao consumo habitual do suco de laranja, ainda não se conhece todos os efeitos da ingestão aguda no organismo, em especial em relação aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, e quanto que a ingestão ocasional pode trazer de benefícios ao consumidor. Além disso, também não foi investigado como o processamento do suco de laranja interfere na ação dos compostos antioxidantes cujas propriedades se refletem nos benefícios associados (GHANIN et al., 2010).

2. OBJETIVOS

Avaliar o efeito da ingestão do suco de laranja fresco e do suco integral pasteurizado (NFC) sobre o estresse oxidativo em indivíduos eutróficos e com excesso de peso.

2.1. Avaliação antropométrica:

- a) Peso (kg), estatura (m) e Índice de Massa Corporal (IMC)
- b) Bioimpedância elétrica (porcentagem de gordura corporal)
- c) Circunferência da cintura e razão cintura/quadril (risco cardiovascular)

2.2. Avaliação de variáveis do estresse oxidativo no soro sanguíneo:

- a) Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)
- b) Avaliação da capacidade antioxidante (ABTS)

3. DESENVOLVIMENTO

Delineamento da Pesquisa

Foi realizado um estudo clínico com intervenção dietética aguda em indivíduos saudáveis, eutróficos e acima do peso, em que os mesmos participaram das três etapas experimentais (crossover).

3.1. Casuística

Participaram do projeto 40 voluntários, que foram recrutados através da divulgação da pesquisa em cartazes no campus da UNESP. Os voluntários foram selecionados de acordo com o sexo, estado nutricional e com a classificação do Índice de Massa Corporal (IMC). Foram recrutados 10 homens eutróficos ($\text{IMC} \leq 24,9 \text{ kg/m}^2$), 10 homens com excesso de peso ($\text{IMC} > 24,9 \text{ kg/m}^2$), 10 mulheres eutróficas ($\text{IMC} \leq 24,9 \text{ kg/m}^2$) e 10 mulheres com excesso de peso ($\text{IMC} > 24,9 \text{ kg/m}^2$) (OMS, 1995).

Os voluntários se enquadraram nos seguintes critérios de seleção: indivíduos saudáveis, não fumantes, na faixa etária de 20 a 50 anos, sem uso de medicamentos, exceto contraceptivos, não faziam dieta para redução de peso, não apresentaram ganho ou perda de peso maior que 3 kg nos últimos três meses e com um padrão de atividade física constante. Eles apresentavam um padrão alimentar regular com no mínimo três refeições diárias, compostas por café da manhã, almoço e jantar ou lanche completo (Apêndice A).

Antes de iniciar o estudo todos os sujeitos assinaram voluntariamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, previamente aprovado pelo Comitê de

Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara - SP - Parecer: 45074 (Apêndices B e C).

4. MÉTODOS

4.1. Desenho experimental

Os indivíduos foram submetidos a três etapas experimentais (crossover), distribuídas ao longo de vinte dias, separados por intervalos de sete dias. Etapas:

- 1) ingestão de suco de laranja fresco (5mL/kg de peso corporal),
- 2) ingestão do suco de laranja pasteurizado (5mL/kg de peso corporal) e,
- 3) ingestão da bebida controle com sabor de laranja (5mL/kg de peso corporal).

Os voluntários foram orientados a não ingerirem sucos cítricos ou bebidas alcoólicas por pelo menos dois dias antes de cada etapa experimental, e a manter ingestão alimentar e atividade física habituais no período. Na manhã do experimento, os voluntários se dirigiram ao Laboratório de Nutrição para colheita de sangue em jejum de 12 horas em cada etapa experimental (tempo zero). Cada voluntário recebeu um copo da bebida a ser testada de acordo com o cronograma, e foi orientado a ingerir o conteúdo total imediatamente. Após 30 minutos da ingestão, foi oferecido aos voluntários um café da manhã “*ad libitum*”, com alimentos pobres em antioxidantes. Foi realizada a colheita de sangue no tempo zero e 5 horas após o consumo da bebida para avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo.

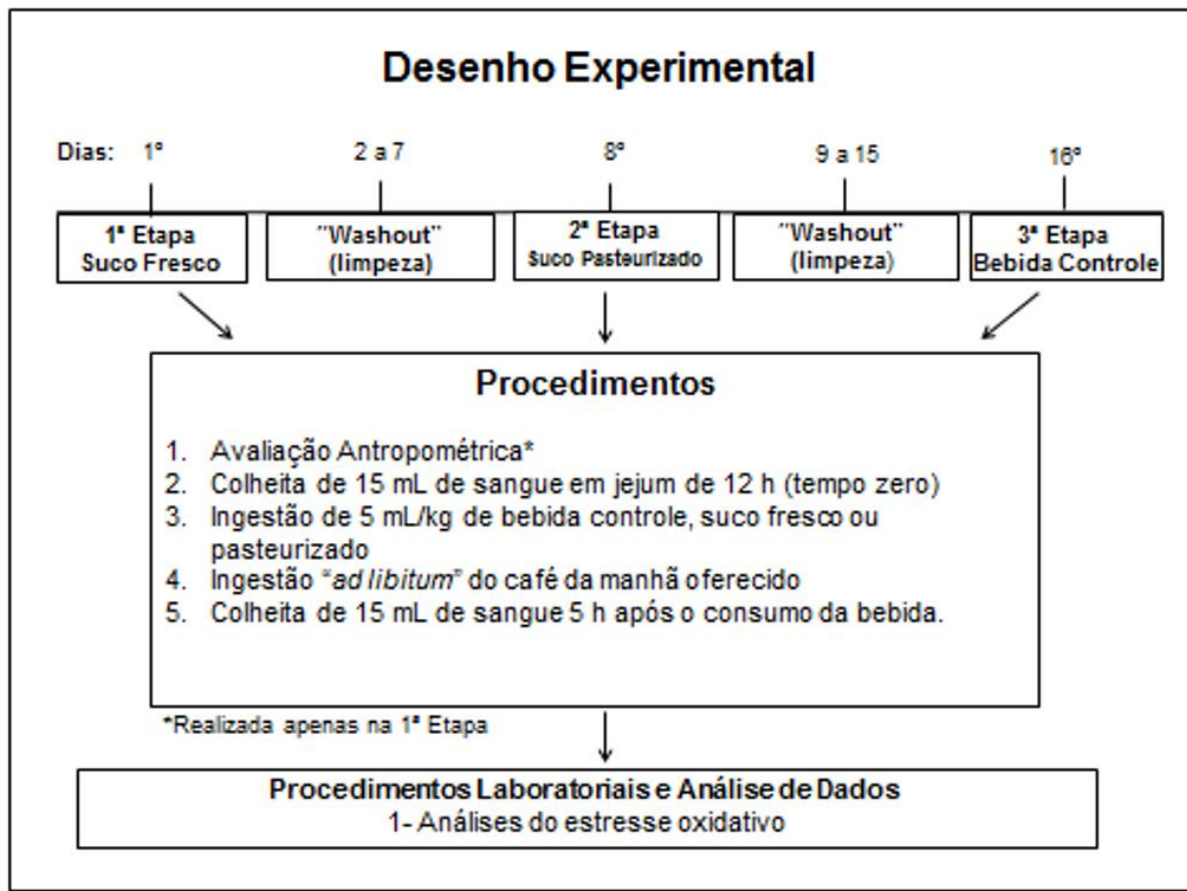


Figura 1. Protocolo Experimental

Bebidas testes

O suco de laranja fresco foi obtido a partir de laranjas frescas Pera Rio (*Citrus sinensis L.*) e o suco de laranja pasteurizado foi produzido a partir do mesmo lote das frutas frescas, ambos fornecidos pelo Grupo Fisher (Matão, Brasil). O suco fresco foi obtido com o auxílio de um extrator de suco (Juice Matic MJ-20, Mulligan Associates, EUA) duas horas antes de iniciar o experimento com os voluntários. O suco pasteurizado foi armazenado em garrafas de 1L a -20°C e descongelado sob refrigeração no dia anterior ao experimento.

A bebida controle foi confeccionada por uma solução aquosa contendo a mesma concentração de açúcares do suco de laranja natural (sacarose / glicose / frutose na proporção 2:1:1), adicionado de ácido cítrico, ácido málico, essência

sabor laranja e corante, para aproximar do sabor e da cor do suco de laranja natural. A análise da composição energética dos sucos e da bebida controle não mostrou diferença ($p > 0,05$) estatística entre o teor energético destes (Tabela 1).

Tabela 1. Composição energética e de nutrientes das bebidas testes (248 ml).

Nutrientes e energia	Suco	Suco	Bebida
	Fresco*	pasteurizado*	controle
Energia (kcal)	112	120	110
Proteína (g)	1,74	1,69	-
Lipídio (g)	0,5	0,3	-
Carboidratos totais (g)	25,8	28,0	25,0
Sacarose (g)	14,0	15,0	13,5
Glicose (g)	6,79	6,0	5,25
Fibras totais (g)	0,5	0,7	0,6

*Tabela de composição Nutricional, UDSA-2010.

** $p < 0,05$. Teste t.

Café da manhã

Essa refeição foi servida após 30 minutos de ingestão dos sucos de laranja e da bebida controle e os voluntários foram orientados a consumir livremente (“*ad libitum*”) todos os alimentos oferecidos: café infusão sem açúcar, leite integral, achocolatado, açúcar, adoçante, pão de forma com 2 fatias de presunto magro e 1 colher rasa de requeijão “light”, biscoito salgado e doce.

Colheita do Material Biológico (sangue)

Em jejum de 12 h foi colhida uma amostra de 15 mL de sangue da veia antecubital do braço, com agulha descartável de calibre 19. Em seguida, o voluntário

ingeriu a bebida respectiva à etapa experimental. Logo após, foi consumido o café da manhã “*ad libitum*”. Após o café da manhã foi coletado 15 mL de sangue.

A punção venal foi feita com agulha apropriada e foram usados dois tubos para colheita do sangue, sendo os tubos específicos para cada tipo de análise que seria realizada posteriormente. Os tempos amostrais foram: jejum (tempo zero) e 5 h após o início em cada etapa experimental. A colheita foi feita por técnicos altamente treinados e habilitados em colheita de sangue do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas de Araraquara. O sangue foi centrifugado e as alíquotas de soro sanguíneo foram devidamente identificadas e armazenadas a -80°C até a realização dos procedimentos analíticos.

4.2. Avaliação Antropométrica

Antes de iniciar o experimento foram tomadas as medidas de peso corporal (kg), altura (m), circunferência da cintura (cm), circunferência do quadril (cm), avaliação da composição corporal dos voluntários e o índice de massa corporal (IMC).

Para aferição do peso corporal dos participantes, estes foram pesados utilizando-se balança eletrônica microdigital, marca Filizola[®], capacidade de 150 kg e precisão de 100g utilizando-se o mínimo de roupa possível em um mesmo horário pré-definido (LOHMAN et al., 1991). A altura foi determinada utilizando-se um antropômetro vertical milimetrado, com escala de 0,5 cm. Em ambas as situações os indivíduos encontraram-se em pé, em posição firme, com os braços relaxados e cabeça no plano horizontal (LOHMAN et al., 1991).

Logo após foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC) (BRAY e GRAY, 1988), que relaciona o peso (kg) e a altura (metros) ao quadrado, para divisão dos voluntários em grupos (eutróficos e com excesso de peso).

Para medição da circunferência da cintura foi utilizada uma fita métrica flexível, com graduação de 150 centímetros. Cada participante foi colocado em pé, com o abdômen relaxado. A fita foi colocada num plano horizontal abaixo da última costela, no ponto de menor circunferência, caso não fosse possível, a fita foi circundada no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. A leitura foi feita no momento da expiração. A circunferência foi registrada em centímetros (LOHMAN et al., 1991). Para as mulheres, a medida da circunferência da cintura menor que 80 cm é considerada dentro da normalidade, essa medida é considerada aumentada quando está entre 80 e 88 cm e considerada muito aumentada com valores maiores que 88 cm. Para os homens, a medida da circunferência da cintura menor que 94 cm é considerada dentro da normalidade, valores entre 94 e 102 cm indicam medida aumentada e valores maiores que 102 cm indicam medida muito aumentada (WHO, 2003).

A circunferência do quadril foi aferida com uma fita métrica flexível, com graduação de 150 centímetros. Cada participante foi colocado em pé. A fita circundou o quadril, de forma horizontal, na região de maior perímetro entre a cintura e a coxa, com o indivíduo usando roupas finas (LOHMAN et al., 1991). Para a circunferência da cintura e razão cintura/quadril foi utilizado o protocolo da organização mundial de saúde (WHO, 2003). Para a razão cintura/quadril, os valores menores que 0,80 para as mulheres e menores que 0,90 para os homens são considerados normais. Como ponto de corte para classificação da gordura corporal (em %) foi utilizado o protocolo de Lohman (1991). Para as mulheres, valores de

gordura corporal entre 9 e 22% são considerados dentro da normalidade, 23% é considerado na média, entre 24 e 31% acima da média e acima de 32% indica obesidade. Para os homens, valores entre 6 e 14% são considerados dentro da normalidade, 15% é considerado na média, entre 16 e 24% são considerados acima da média e acima de 25% indica obesidade.

4.3. Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)

A peroxidação lipídica, antes e após os tratamentos experimentais com os sucos de laranja e com a bebida controle, foi avaliada no soro dos voluntários pela quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo a metodologia descrita por Yagi (1998) e modificada por Nasser et al. (2011). Para a obtenção do soro, foi feita a centrifugação do sangue de cada paciente. O nível de peroxidação lipídica normal no soro humano varia de 1,86 a 3,94 μM , expressos em termos de malondialdeído (MDA). Os lipoperóxidos são hidrolisados em meio ácido e o MDA formado reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) produzindo o aduto MDA-TBA. O MDA forma um aduto de proporção 1:2 com o TBA (Figura 1). O ensaio foi realizado em duplicata e a absorbância medida em espectrofotômetro a 532nm.

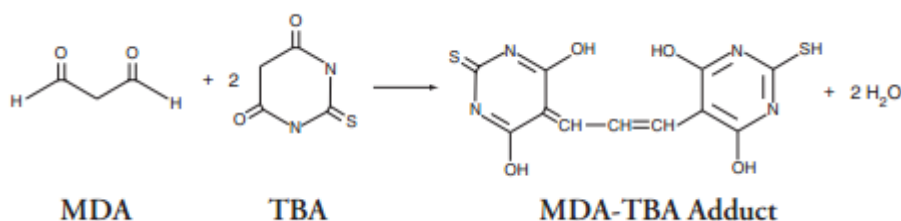


Figura 2: Reação entre o MDA e o TBA

4.4. Avaliação da capacidade antioxidante (ABTS)

A capacidade antioxidante foi avaliada no soro dos pacientes, antes e após o tratamento com os sucos de laranja e com a bebida controle, pelo método ABTS^{•+}, segundo a metodologia de Janaszewska (2002).

O ensaio é baseado na reação do ABTS com o persulfato de potássio, produzindo o radical ABTS^{•+}, que na presença de antioxidantes no soro tem um decréscimo da absorbância a 734nm. A atividade antioxidante é determinada medindo-se a redução do radical por meio da porcentagem de inibição da absorbância em 734nm (ALKARKHI; AZHAR; BIGLARI, 2008). O soro de cada indivíduo foi colocado na placa junto com a solução de ABTS^{•+} e homogeneizado. Após incubação por 6 minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, foi feita a leitura em 734 nm. A capacidade antioxidante normal do soro humano é 0,5 a 2,0 mM.

A Figura 2 mostra a reação do radical ABTS^{•+} com o antioxidante. O elétron no radical livre ganha uma absorção máxima em 734nm e uma coloração verde escura. A coloração muda para verde claro quando a absorvidade molar do radical ABTS^{•+} reduz, que corresponde ao elétron radical livre ABTS pareado com um hidrogênio do antioxidante, levando a forma reduzida (ABTS-H). A descoloração resultante é estequiométrica com o número de elétrons capturados.

A absorbância da reação entre o radical e o antioxidante é comparada ao padrão Trolox e os seus resultados são expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (RE et al., 1999).

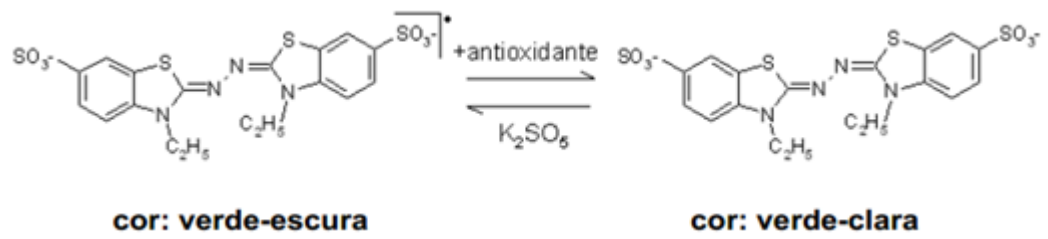


Figura 3: Estabilização do radical $ABTS^{\cdot+}$ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de sódio

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram comparados em relação à média e o desvio padrão através do programa Microsoft Excel®. Para comparação entre os grupos foram usados o teste t, a análise de variância – ANOVA one way e two way, e quando significativo, o teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes para todas as comparações efetuadas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 40 indivíduos recrutados para participarem do projeto, 37 voluntários finalizaram o estudo. Os outros 3 desistiram por razões pessoais na primeira ou segunda etapa do trabalho. Dos 37 voluntários que finalizaram o estudo, 51% (19) eram do sexo feminino e 49% (18) do sexo masculino. A idade média foi $26,8 \pm 7,4$ anos, variando de 20 a 46 anos. 35 indivíduos eram da raça branca e 2 indivíduos eram da raça negra.

Conforme os critérios de inclusão os voluntários não fumavam e nem faziam uso de medicamentos, apenas 5 mulheres faziam uso de contraceptivos orais. Em relação ao consumo de bebida alcoólica, 70% dos voluntários relataram consumir pelo menos uma vez por semana, principalmente cerveja e destilados ou ambos. Entre os voluntários, 43% disseram praticar atividade física regularmente, e as atividades mais citadas foram caminhada, corrida e musculação, variando de $3,8 \pm 1,1$ dias/semana.

6.1. Avaliação Antropométrica

O perfil antropométrico dos voluntários deste estudo foi um importante critério de seleção, pois se pretendeu avaliar o estresse oxidativo em condições normais, representada pelos indivíduos eutróficos, e nos indivíduos com excesso de peso, sujeitos ao risco de desenvolver doenças crônicas, como diabetes e doenças cardiovasculares. Assim os indivíduos foram classificados de acordo com o gênero, IMC e fatores de risco metabólicos (Tabela 2).

Tabela 2 - Perfil antropométrico dos voluntários de acordo com o gênero e o IMC.

Classificação	Mulheres		Homens	
	Eutróficos	Excesso de peso	Eutróficos	Excesso de peso
N	10	9	9	9
IMC (Kg/m ²)	22,2 ± 1,6	29,6 ± 4,5*	23,0 ± 1,9	33,9 ± 4,8*
Peso (Kg)	57,6 ± 6,3	75,0 ± 7,9*	67,4 ± 5,1	106 ± 17,1*
Circunf. Cintura (cm)	68,8 ± 3,8	86,0 ± 8,8*	76,7 ± 8,9	98,5 ± 14,3*
Circunf. Quadril (cm)	98,9 ± 5,5	111 ± 7,2*	97,1 ± 3,2	118 ± 9,5*
Cintura / Quadril	0,70 ± 0,03	0,78 ± 0,06	0,79 ± 0,07	0,83 ± 0,09
Gordura corporal (%)	28,0 ± 2,2	34,8 ± 3,8*	19,3 ± 5,7	29,8 ± 4,4*

Dados são descritos como: Média ± Desvio Padrão

* P ≤ 0,05: diferença significativa detectada pelo teste t entre sujeitos do mesmo gênero

Pode ser observado que os indivíduos com excesso de peso, tanto homens como mulheres, apresentaram medidas significativamente maiores para todos os dados analisados, exceto para a razão da circunferência da cintura com o quadril, que não foi significativamente maior.

A porcentagem de gordura corporal em todas as mulheres avaliadas foi acima do valor de referência, sendo que nas mulheres com excesso de peso, o percentual de gordura foi indicativo de obesidade. Já no sexo masculino, apenas 22% dos voluntários eutróficos apresentaram o percentual de gordura adequado e o restante (78%), assim como todos do grupo com excesso de peso, apresentaram uma porcentagem de gordura acima da média ou até mesmo obesidade. Tal fato tem sido também observado em estudos anteriores, que sugeriram que o excesso de gordura corporal é um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas (HUXLEY et al., 2010; ZIMMET & ALBERTI, 2006).

Em relação ao depósito de gordura abdominal (circunferência da cintura), no grupo de mulheres eutróficas todas se enquadraram na classificação adequada.

Entre as mulheres com excesso de peso, 22% tinham circunferência da cintura dentro da normalidade, 22% mostravam risco para doenças cardiovasculares, enquanto a maioria, 56% destas mulheres tinham cintura muito aumentada e portanto com alto risco para doenças cardiovasculares (WHO, 2003).

No sexo masculino, 100% dos indivíduos eutróficos tinham circunferência da cintura dentro dos padrões de normalidade, porém nos indivíduos com excesso de peso apenas 22% apresentaram medidas dentro da normalidade. Entre os demais, 22% apresentaram medida aumentada da cintura e portanto, com risco médio de doenças cardiovasculares e, 56% apresentaram medida da cintura muito elevada e alto risco para doenças cardiovasculares (WHO, 2003).

O IMC é o indicador mais usado para classificar o estado nutricional, porém também se considera a circunferência da cintura ou abdominal e a razão cintura/quadril (WHO, 2003). A razão cintura/quadril faz parte dos critérios diagnósticos para a síndrome metabólica, propostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003), entretanto, vem perdendo espaço, segundo alguns autores, para a circunferência da cintura, que, por se tratar de uma única medida, estaria menos sujeita à variabilidade na mensuração (IDF, 2006; LOHMAN et al., 1991). Isso pode ser comprovado pelos resultados do estudo, alguns voluntários apresentaram alto risco metabólico e a razão cintura/quadril indicou baixo risco metabólico. Yong Liu et al. (2011), corroboraram com estes achados, relacionando ainda estas variáveis antropométricas com fatores de risco metabólico como aumento da pressão arterial, da glicemia de jejum, dos triglicérides, da resistência insulínica, de fatores relacionados com diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares, tanto em homens como em mulheres.

6.2. Avaliação do Estresse Oxidativo

O processo metabólico dos seres vivos é baseado em reações bioquímicas que convertem substâncias químicas em derivados com menor número de elétrons. Com isso há produção de radicais livres atuando como mediadores nessas reações, mas que, em excesso, podem causar dano oxidativo (BAE et al., 1999). A oxidação dos substratos (proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e carboidratos) pode ser prevenida pelos antioxidantes, os quais diminuem a concentração dos radicais livres no organismo e podem também quelar íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica (HALLIWELL, 1996). Em uma situação de estresse oxidativo há o desequilíbrio entre as quantidades de moléculas oxidantes e antioxidantes, levando a indução de danos celulares pelos radicais livres (BARREIROS et al., 2006).

No presente estudo a avaliação do estresse oxidativo pelo teste do TBARS (Tabela 3) mostrou redução significativa da peroxidação lipídica depois da ingestão de suco de laranja fresco e do pasteurizado, mas não após a bebida controle. Em seguida à ingestão do suco de laranja fresco e do suco de laranja pasteurizado houve redução de 33% e 30%, respectivamente, na quantidade de MDA no soro dos voluntários ($p < 0,05$), sugerindo que tanto o suco de laranja fresco quanto o pasteurizado reduziram a peroxidação lipídica no soro sanguíneo.

Da mesma forma, a avaliação da capacidade antioxidante do sangue circulante, realizada pelo método do ABTS (Tabela 3), mostrou que após a ingestão aguda de ambos os sucos de laranja, fresco e pasteurizado, houve aumento significativo ($p < 0,05$) da capacidade antioxidante no soro sanguíneo dos voluntários, em comparação com o jejum, mostrando um efeito positivo da ingestão do suco de laranja no aumento da proteção ao estresse oxidativo.

Tabela 3. Marcadores do estresse oxidativo antes e depois do tratamento agudo com os sucos de laranja fresco, pasteurizado e com a bebida controle.

Bebida	Jejum	Controle	Suco Fresco	Suco Pasteurizado
TBARS[#]	0,84 ± 0,75 ^a	1,06 ± 0,98 ^a	0,56 ± 0,35 ^b	0,59 ± 0,44 ^b
ABTS^{##}	1,82 ± 0,05 ^a	1,79 ± 0,08 ^a	1,84 ± 0,04 ^b	1,86 ± 0,03 ^b

Os valores são médias ± DP

[#]TBARS: [MDA] = μM

^{##}ABTS: [equivalente de Trolox] = mM

O aumento da capacidade antioxidante e redução da hidroxidação lipídica vêm sendo atribuídos a atividade antioxidante da vitamina C e das flavanonas cítricas (hesperidina e naringina) do suco de laranja, que tem sido associados a propriedades anti-inflamatórias e hipolipemiantes, entre outras (EJAZ et al., 2006). A vitamina C atua na remoção e interrupção das reações dos radicais livres (BONIFÁCIO e CÉSAR, 2009), enquanto que os flavonóides doam átomos de hidrogênio disponíveis nos grupos fenólicos e estabilizam o elétron desemparelhado do radical livre (BURDA e OLESZEK, 2001; DI MAJO et al., 2005). Essa capacidade de proteger o organismo da oxidação lipídica e dos danos ao DNA diminui a incidência e a mortalidade em casos de doenças cardiovasculares e câncer (BARREIROS & DAVID, 2006).

Embora o tratamento agudo com os sucos de laranja mostrou uma diminuição do estresse oxidativo, não foi observada diferença quando comparados os parâmetros do estresse entre o suco fresco e pasteurizado (Figura 4 e 5).

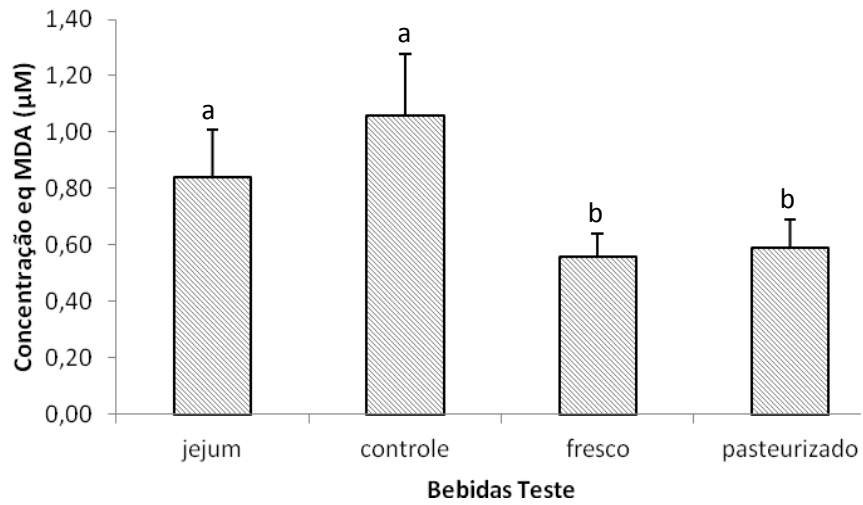


Figura 4. Valores de TBARS antes e após o tratamento com a bebida controle e com os sucos de laranja fresco e pasteurizado.

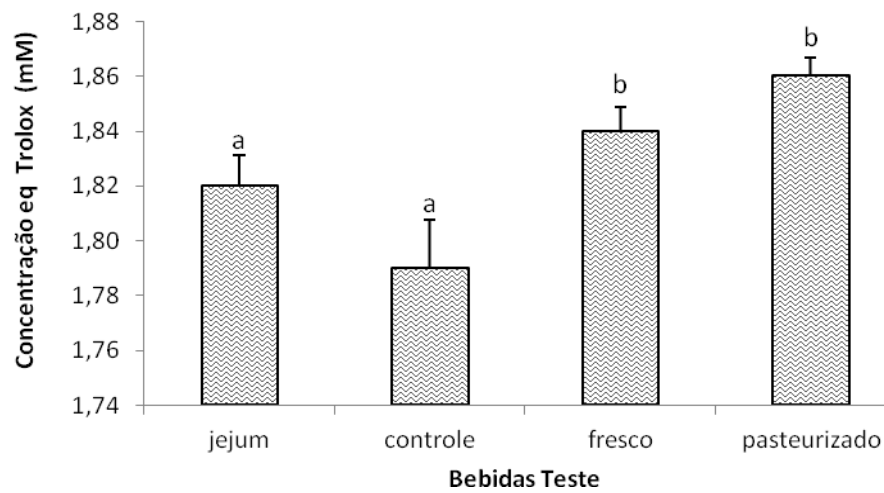


Figura 5. Valores de ABTS antes e após o tratamento com a bebida controle e com os sucos de laranja fresco e pasteurizado.

A composição química dos compostos bioativos, vitamina C e flavanonas, é alterada com o processamento mecânico (suco fresco) ou industrial (suco pasteurizado). Por exemplo, o suco fresco contém 125mg de vitamina C e 76µg de folato, enquanto o suco pasteurizado apresenta 86mg de vitamina C e 46µg de folato (GIL-IZQUIERDO A, 2002; USDA DATABASE, 2010). Estas diferenças se devem ao poder de extração dos compostos e a conservação destes durante a confecção dos sucos. O suco fresco, que provém de uma extração mais amena, apresenta maior teor de polimetoxiflavonas (PMF) encontradas naturalmente no óleo da casca da fruta, e que são incorporados durante a moagem da laranja na confecção do suco, mas apresenta menor teor de flavanonas, em relação ao suco pasteurizado. Já o processamento industrial, que obtém o suco por meio de extração muito mais drástica do interior da fruta, incorpora maior teor de hesperidina e naringina, embora apresente perdas do conteúdo de vitamina C (Gil-Izquierdo et al., 2002; USDA, 2007).

Então, sugere-se que a menor quantidade de vitamina C do suco de laranja pasteurizado pode ter sido compensada pela maior quantidade de hesperidina, que apresenta forte ação antioxidante. Por outro lado, a menor quantidade de hesperidina do suco fresco, foi compensada pelo maior conteúdo de vitamina C. Quanto às polimetoxiflavonas do suco fresco, sabe-se que apesar de apresentarem ações anti-inflamatórias e funcionais no organismo, não apresentam efeitos antioxidantes (Gil-Izquierdo et al., 2002).

Segundo Marti et al. (2009), a atividade antioxidante das frutas e sucos cítricos não deriva apenas da vitamina C, mas também dos flavonóides cítricos. Este estudo confirma que ambos os sucos de laranja, fresco e pasteurizado,

apresentaram atividade antioxidante, que neste caso foi atribuída à ação da vitamina C e dos flavonóides cítricos.

Vários estudos mostraram ainda que a ingestão regular de suco de laranja tem efeito positivo no estresse oxidativo (BORRAIDELE et al., 1999; VAN ACKER et al., 2000). A efetividade da terapia antioxidante também foi percebida em estudos de suplementação de pacientes com vitamina C resultando na diminuição da peroxidação lipídica (FELIPE & PERCÁRIO, 2004). Ghanim et al. (2010) mostrou que a ingestão aguda do suco de laranja também diminui o estresse oxidativo após dieta hipercalórica. A dieta aumentou a expressão de moléculas inflamatórias e o estresse oxidativo, e entre as bebidas testadas (solução de glicose, solução de frutose, suco de laranja), apenas o suco de laranja diminuiu o estresse oxidativo.

Tabela 4. Relação de TBARS e ABTS de acordo com o estado nutricional dos voluntários após a ingestão da bebida controle, do suco de laranja fresco e do suco de laranja pasteurizado

	Eutróficos	Excesso de peso	p
TBARS [#]			
Suco fresco	0,52 ± 0,30 ^a	0,61 ± 0,40 ^a	0,87
Suco pasteurizado	0,63 ± 0,53 ^a	0,56 ± 0,33 ^a	0,98
Controle	1,00 ± 0,86 ^a	1,17 ± 1,12 ^a	0,61
ABTS ^{##}			
Suco fresco	1,84 ± 0,04 ^a	1,84 ± 0,05 ^a	0,99
Suco pasteurizado	1,86 ± 0,03 ^a	1,84 ± 0,04 ^a	0,30
Controle	1,77 ± 0,09 ^a	1,80 ± 0,09 ^a	0,40

Dados são descritos como: Média ± Desvio Padrão

* P ≤ 0,05: diferenças detectadas pelo teste Two Way Anova em relação ao IMC e bebidas testes.

[#]TBARS: [MDA] = μM

^{##}ABTS: [equivalente de Trolox] = mM

Embora alguns estudos tenham mostrado aumento do dano oxidativo em obesos (DANDONA et al., 2001) e diminuição significativa do estresse oxidativo após a restrição dietética e perda de peso (DAVI et al., 2002), neste estudo a comparação do ABTS e TBARS em relação ao IMC não mostrou diferenças estatísticas (Tabela 4). Isto indicou que o efeito dos sucos de laranjas (fresco e pasteurizado) independeu do estado nutricional dos indivíduos analisados, beneficiando tanto os indivíduos eutróficos quanto aqueles com excesso de peso.

7. CONCLUSÕES

No estudo foi mostrado que a ingestão aguda dos sucos de laranja fresco e pasteurizado aumentou a capacidade antioxidante e reduziu a peroxidação lipídica no soro dos voluntários, protegendo contra o estresse oxidativo e o desenvolvimento de doenças crônicas.

Dessa forma, conclui-se que os sucos de laranja, em relação à bebida açucarada, apresentam propriedade funcional de proteção contra as doenças que têm na sua origem o estresse oxidativo, como o câncer e doenças cardiovasculares.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APTEKMANN, N.P; CESAR, T.B. Orange juice improved lipid profile and blood lactate of overweight middle-aged women subjected to aerobic training. **Maturitas**. v. 67, p. 343-347, 2010.

BAE,G.U; SEO, D.W.; KWON, H.K.; LEE, H.Y.; HONG, S.; LEE, Z.W.; HA, K. S.; LEE, H.W.; HAN, J. W. **J.Biol.Chem.** 274,32596, 1999.

BARREIROS, L.B.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo.**Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, 2006.

BEECHER, G.R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **J Nutr.**, v.133, p.3248S-3254S, 2003.

BIGLARI, F.; ALKARKHI, A. F. M.; AZHAR, M. E. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. **Food Chemistry**, Barking, v. 107, p. 1636-1641, 2008.

BONIFÁCIO, N.P.; CESAR, T.B. Influência da ingestão crônica do suco de laranja na pressão arterial e na composição corporal. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.16, n 2, p.76-81, 2009.

BORRADAILE N. M.; CARROLL K. K.; KUROWSKA E. M. Regulation of HepG2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin. **Lipids**, v.34, p.591-598,1999.

BRAY, G. A.; GRAY, D. S. Obesity. Pathogenesis. **Western Journal of Medicine**, v. 149, p. 429-441, 1988.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2774-2779, 2001.

DANDONA, P.; MOHANTY, P.; GHANIM, H.; ALJADA, A.; BROWNE, R.; HAMOUDA, W.; PRABHARA, A.; AFZAL, A.; GARG, R. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. **J Clin Endocrinol Metab**, v.86, p.355–362, 2001.

DI MAJO, D.; GIAMMANCO, M.; LA GUARDIA, M.; TRIPOLI, E.; GIAMMANCO, S. e FINOTTI, E. Flavanones in Citrus fruit: Structure-antioxidant activity relationships. **Food Research Internacional**, v.38, p.1161-1166, 2005.

EJAZ, S.; EJAZ, A.; MATSUDA, K.; CHAE, W. L. Limonoids as cancer chemopreventive agents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p.339-345, 2006.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, Commodities and Trade Division. Rome. Disponível em: <http://www.fao.org/es>. Acesso em: 26 ago 2013.

FELIPE JR, J.; PERCÁRIO, S. Efeito de antioxidantes endovenosos sobre a peroxidação lipídica em humanos. **Associação Brasileira de Medicina Complementar**, p.19-23, 2004.

GHANIM, H.; SIA, C.H.; UPADHYAY, M.; KORZENIEWSKI, K.; VISWANATHAN, P.; ABUAYSHEH, S.; MOHANTY, P.; DANDONA, P. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. **Am J Clin Nutr.** v.91, p.940–949, 2010.

GIL-IZQUIERDO, A.; GIL, M. I.; FERRERES, F. Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 18, p. 5107-5114, 2002.

HALLIWELL, B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo. **Free Radic Res**; 25:439–54,1996.

HAN, TS.; VAN LEER, EM.; SEIDELL, JC.; LEA. Waist circumference action levels in the identification of cardiovascular risk factors: prevalence study in a random sample. **Br. Med. J.**, v.311, p.1401 - 1405, 1995.

HUXLEY, R.; MENDIS, S.; ZHELEZNYAKOV ET AL. Body mass index, waist circumference and waist hip ratios predictors of cardiovascular risk – a review of the literature. **European Journal of Clinical Nutrition**, 64(1):16-22, 2010.

IDF. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. **International Diabetes Federation (IDF)**, 2006.

JANASZEWSKA, A.; BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. **Scand J Clin Lab Invest.**, v. 62, p. 231–236, 2002.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables : the millennium's health. **Intern J Food Sci and Technol.**, v.36, p.703-725, 2001.

KLIMCZAK, I.; SZLACHTA, M.M.M.; GLISZCZYNSKA-SWIGO, A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **J Food Comp and Anal.**, v. 20, p. 313-322, 2007.

LOHMAN, T.G, ROCHE, A.F, MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Abridged, 1991.

MARTÍ, N.; MENA, P.; CÁNOVAS, JÁ.; MICOL, V.; SAURA, D. Vitamina C and the role of citrus juices as functional food. **Nat Prod Commun.** May, v.4,n.5,p. 677-700, 2009.

NASSER, ALM; DOURADO, G.K; MANJATE, D.A; CARLOS, I.Z; CESAR, TB. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 32, n.2, p. 275-279, 2011.

OMS (Organização Mundial da Saúde), 1995. **Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry**. (Technical Report Series, 854). Genebra: OMS.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA. A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorizing assay. **Free Radical Biol. Med.**, 26: 1231-1237, 1999.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. (2010). Disponível em <http://www.ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=12-35-45-00>
Acesso em: 12 ago 2013.

VAN ACKER, F.A.A.; SCHOUTEN O.; HAENEN G.R.M.M.; VAN DER VIJGH W.J.F.; BAST, A. Flavonoids can replace - tocopherol as an antioxidant. **FEBS Lett.** 473:145-148, 2000.

WHO. Global strategy for the prevention and control of noncommunicable diseases. Geneva, **World Health Organization** (WHO), 2000.

WHO/FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva, **World Health Organization/Food and Agriculture Organization** (WHO/FAO), 2003.

YAGI K. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. **Methods in Mol Biology**, v108, p.101-106, 1998.

YONG LIU, GUANGHUI TONG, WEIWEI TONG, LIPING LU, XIAOSONG QIN LIU ET A. Can body mass index, waist circumference, waist-hip ratio and waist-height ratio predict the presence of multiple metabolic risk factors in Chinese subjects. **BMC Public Health**, 11:35, 2011.

ZIMMET, P. Z.; ALBERTI, K.G. Introduction: Globalization and the non-communicable disease epidemic. **Obesity (Silver Spring)**, 14(1):1-3, 2006.

9. APÊNDICES

Apêndice A

Questionário

Data: ____/____/____

Nome: _____ _____	
Telefone: _____ celular: _____	
Sexo: M () F ()	Profissão: _____ Data de nascimento: _____
e-mail: _____	

I- História Clínica

1 – Você tem ou teve alguma destas doenças citadas abaixo:

- Ataque cardíaco
- Derrame
- Diabetes
- Hipertensão
- Câncer
- Outras: _____

2- Alguém da sua família (pai, mãe, irmãos, avós) já teve algumas destas doenças abaixo:

- Ataque cardíaco Hipertensão
- Derrame Câncer
- Diabetes
- Outras: _____

3 – (Apenas para mulheres) Você está atualmente grávida ou amamentando?

- Não
- Sim (grávida) Sim (amamentando)

4 - Você faz uso de algum remédio?

- Não
- Sim. Qual (s): _____

5 – Você tem alguma alergia a remédios, alimentos ou outras substâncias?

- Não
- Sim. Qual (s): _____

Sintomas: _____

6 – Você fuma ?

- Não
 - Sim. Qual (s): _____
- Quantos cigarros (ou outro tipo de fumo) por dia? _____

7 – Você consome álcool?

- Não
- Sim. Qual (s): _____

Quantidade por semana: _____

8- Você pratica atividade físicas regulares?

Não

Sim. Qual (s): _____

Tempo por dia: _____

Dias por semana: _____

9 – Você planeja começar um exercício num futuro próximo?

Não

Sim na próxima semana

no próximo mês

II – Informações Dietéticas

10 – Você apresenta algum desejo alimentar que ocorre regularmente? (Alimentos que você alteraria suas atividades rotineiras para obtê-los)

Não Sim. Qual (s):

11 – Você tem alguma intolerância alimentar? (como intolerância à lactose do leite)

Não Sim. Qual (s):

12 – Qual a porcentagem de controle sobre a seleção e preparação de seus alimentos você tem?

nenhuma

51 – 75%

0 – 25%

76 – 100%

26 -50%

13 – Indique as horas do dia em que você consome refeições e lanches:

a) café da manhã:

b) lanche da manhã:

c) Almoço:

d) Lanche da tarde:

e) Jantar ou lanche noturno:

f) Ceia:

g) Outras refeições/lanches:

14 – Você perdeu ou ganhou mais do que 3 Kg nos últimos 6 meses?

Não

Sim - Perdeu ___ Kg, Ganhou ___ Kg

15 – Após os 18 anos de idade:

Qual o maior peso que você já teve? Peso _____ Idade: _____

Qual o menor peso que você já teve? Peso _____ Idade: _____

16 – Você está atualmente seguindo alguma dieta?

Não

Sim. Qual tipo: _____

prescrita por profissional de nutrição ou médico

prescrita por você mesmo

17 – Você utiliza alguma forma de suplemento alimentar? (ex: vitaminas, minerais, proteínas, etc.)

Não

Sim. Qual (s): _____

Apêndice B

Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Nome:.....,
 RG....., estado civil....., idade,
 residente à rua.....
,
 bairro....., cidade....., telefones de
 contato, declaro ter sido
 orientado e esclarecido sobre o protocolo de pesquisa a seguir:

O senhor(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa que pretende verificar se a ingestão de suco de laranja pasteurizado e suco de laranja fresco contribuem para diminuir sensação de apetite e ingestão de alimentos, além de reduzir o açúcar do sangue e prevenir o aumento do peso do corpo.

Ao participar desta pesquisa, o senhor(a) será submetido(a) a avaliação física e nutricional no início do estudo, e deverá fornecer informações sobre idade, saúde pessoal e alimentação usual. Também participará de uma avaliação bioquímica, que inclui colheita de sangue em três ocasiões distintas. O pesquisador responsável irá orientá-lo sobre os procedimentos que serão realizados durante a pesquisa e que são descritos a seguir, e também poderá orientá-lo sobre uma dieta adequada.

O senhor(a) deverá beber em três ocasiões um total de aproximadamente 1 copo grande de suco de laranja, sendo na primeira ocasião oferecido 1 copo de suco de laranja fresco, e na segunda ocasião 1 copo de suco de laranja integral pasteurizado e na terceira uma água com sabor de laranja, havendo um período não inferior a 1 semana entre as ingestões de suco. Para evitar interferência nos resultados será necessário que o senhor(a) se abstenha de consumir suco de laranja ou laranja durante os 2 dias que antecedem os dias do experimento.

O senhor(a) deverá doar um total de 210 mL de sangue em três ocasiões (70 mL por vez) para a determinação da glicemia e insulina e para avaliar os hormônios do apetite. A colheita de sangue será feita durante 5 horas, sendo que a primeira colheita, de 12 mL, antecede a ingestão do suco de laranja. As demais colheitas, de 12 mL cada, serão feitas após ingestão do café da manhã, nos tempos de 30, 60 e 120 e 300 minutos. A colheita de sangue será realizada em sala específica, com cadeiras confortáveis, ambiente com temperatura confortável e revistas para entretenimento. O local de colheita será o Laboratório de Nutrição do Departamento de Alimentos no campus da UNESP, Rodovia Araraquara - Jaú Km 1, Araraquara, SP.

A sua participação na pesquisa será voluntária e livre de qualquer ônus, e receberá alimentação (café da manhã e almoço) nos dias experimentais.

É necessário informá-lo que durante a pesquisa o senhor(a) não poderá estar sob tratamento medicamentoso para controle do peso, ou fazendo suplementação com vitaminas, minerais ou bioflavonóides, e se necessitar de medicamentos ou suplementos, o senhor(a) deverá informar imediatamente o pesquisador sobre esta nova condição de saúde.

Os riscos que o senhor(a) será submetido(a) ao participar desta pesquisa são mínimos, apenas terá o desconforto das colheitas de sangue que serão feitas em local confortável, com material descartável para a retirada do sangue, buscando o menor desconforto possível com equipamentos que minimizem a punção venosa,

como por exemplo agulhas ultrafinas. No total, contabilizando as três etapas experimentais, deverão ser realizadas 15 punções venosas (bem sucedidas) para a retirada do sangue.

Para assegurar sua privacidade, o seu nome será mantido em sigilo antes, durante e após a pesquisa, e se desejar, receberá informações sobre o resultado da pesquisa.

O senhor(a) poderá desistir da pesquisa em qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou penalização, mas que avisará os pesquisadores se isto ocorrer.

O senhor(a) deverá notificar qualquer situação de anormalidade relacionada à pesquisa e para tanto deverá entrar em contato com o pesquisador responsável pelos telefones: 3301-6927. Para outros esclarecimentos e reclamações, o senhor(a) poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Rodovia Araraquara-Jaú, km 1, Araraquara, São Paulo, telefone: (16)3301-6897.

Pelo presente esclarecimento, o senhor(a) concorda em participar do estudo: **“Moduladores do apetite e do consumo alimentar pós ingestão do suco de laranja em indivíduos eutróficos e com excesso de peso”**, sob responsabilidade da pesquisadora **Profa. Dra. Thaís Borges Cesar**.

Araraquara, ____/____/____

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

Apêndice C

Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Faculdades de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP

PROJETO DE PESQUISA

Título: Modulação do apetite pelo suco de laranja

Área Temática:

Pesquisador: Thais Borges Cesar

Versão: 1

Instituição: Faculdades de Ciências Farmacêuticas do
Câmpus de Araraquara da UNESP

CAAE: 03067812.9.0000.5426

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 45074

Data da 21/06/2012

Apresentação do Projeto:

A apresentação está adequadamente estruturada e contém os elentos necessários para apreciação

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da ingestão do suco de laranja fresco e do suco integral pasteurizado sobre moduladores do apetite e do consumo alimentar em indivíduos eutróficos e com excesso de peso.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A proposta prevê a preservação da confidencialidade em relação aos sujeitos da pesquisa. Haverá coleta de sangue em cada uma das tres etapas e em 5 ocasiões consecutivas que são correspondentes ao jejum, e imediatamente após a ingestão de suco de laranja e 30, 60 e 120 minutos após um desjejum, totalizndo 75 mililitros em cada etapa e 225 mililitros para atender ao protocolo completo. Na descrição dos riscos associados e no TCLE o proponente do projeto indica que o desconforto dessas coletas de sangue serão minimizados por manutenção de escalpe venoso, no entanto, em Metodologia, as coletas são descritas como segue: "Em jejum de 12h, será colhida amostra de 15mL de sangue da veia do braço antecubital, com agulha calibre 19 conectado à seringa de plástico. Em seguida, o voluntário deverá ingerir o suco e será coletado mais 15 ml de sangue. Após 30 minutos ele irá ingerir um café da manhã "ad libitum". Logo após o café da manhã será coletado 15 ml de sangue e também nos tempos seguintes: 30, 60 e 120 minutos. Portanto os procedimentos envolvem desconforto expressivamente diferentes e devem ser esclarecidos, no projeto e para os sujeitos da pesquisa no TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sobre os riscos a que se submeterão os sujeitos da pesquisa, não há indicação de que possa haver dificuldade de compreensão que prejudique a decisão pela participação ou não no projeto pelos mesmos. Considero necessário, no entanto, que a descrição seja coincidente em todo o projeto para adequada apreciação pelo CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Deve haver modificação do TCLE relativas à coleta de sangue em consonância com o que resultar aceito pelo CEP para o procedimento.

Recomendações:

Descrever o procedimento de coleta de sangue que é pretendido e unificar a descrição do mesmo no projeto e na informação aos sujeitos da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

ajustar a descrição do procedimento de coleta de sangue para apreciação inequívoca dos riscos.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer nº 25/2012 ç Comitê de Ética em Pesquisa

O projeto çModulação do apetite pelo suco de laranjaç encontra-se adequado em conformidade com as orientações constantes da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Por essa razão, o Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, considerou o referido projeto estruturado dentro de padrões éticos manifestando-se FAVORAVELMENTE à sua execução, porém, sugere utilizar o termo scalpe calibre 19G e não agulha, como consta em todo o projeto.

O relatório final e os Termos de Consentimento Livre Esclarecido dos sujeitos da pesquisa (originais e assinados em todas as folhas) deverão ser entregues em JULHO de 2013.

Araraquara, 25 de junho de 2012.

Prof. Dr. HENRIQUE FERREIRA
Coordenador do CEP

ARARAQUARA, 27 de Junho de 2012

Assinado por:

HENRIQUE FERREIRA

DADOS FINAIS

Araraquara, 25 de novembro de 2013.

ARIANE VOLTOLINI PAIÃO
ALUNA

De acordo,

PROF^a. DR^a THAIS BORGES CESAR
ORIENTADORA