

UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM
MEDICINA REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL

MARCELO PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

ESTUDO *IN VITRO* DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO DE
SEMENTES DE *Euterpe oleracea*

Araraquara
2026

MARCELO PEREIRA DA SILVA JÚNIOR

**ESTUDO *IN VITRO* DE PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO EXTRATO DE
SEMENTES DE *Euterpe oleracea***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Aparecida Resende Nogueira

**Araraquara
2026**

FICHA CATALOGRÁFICA

S581e Silva Junior, Marcelo Pereira da.
Estudo in vitro de propriedades biológicas do extrato de sementes de
Euterpe Oleracia/ Marcelo Pereira da Silva Junior. – Araraquara:
Universidade de Araraquara, 2026.
43f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal –
UNIARA

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Aparecida Resende Nogueira

1. Extratos vegetais. 2. Euterpe Oleracia. 3. Açaí. 4. Atividade
prebiótica. 5. Antioxidantes naturais. 6. Avaliação genotoxicológica.
I. Título.

CDU 577.4

MARCELO PEREIRA DA SILVA JUNIOR

Dissertação apresentada a Universidade de Araraquara - UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 25 de fevereiro de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



FLAVIA APARECIDA RESENDE NOGUEIRA
Data: 10/03/2026 16:59:02-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª FLÁVIA APARECIDA RESENDE NOGUEIRA (Orientadora)
Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente



MONICA ROSAS DA COSTA IEMMA
Data: 10/03/2026 16:33:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª MÔNICA ROSAS DA COSTA IEMMA
Universidade de Araraquara – UNIARA

Documento assinado digitalmente



MARCELO GONZAGA DE FREITAS ARAUJO
Data: 02/03/2026 08:20:16-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. MARCELO GONZAGÁ DE FREITAS ARAÚJO
Universidade Federal de São João Del Rei – Campus Centro-Oeste Dona Lindu –
Divinópolis - MG

*Dedico esse trabalho para minha querida esposa
Franciele que sempre esteve ao meu lado,
me apoiando em meus desafios*

Agradecimentos

Quero agradecer, primeiramente, a Deus, que é a base da minha vida; à minha esposa Franciele e às minhas filhas Manuelle e Liz; à minha mãe Edna, ao meu pai Marcelo e à minha irmã Mariele, por sempre estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos. Este trabalho só foi possível graças a vocês.

Agradeço à minha orientadora, Flávia, por toda a paciência e empenho comigo e com o meu trabalho. Também à Professora Dra. Kátia, que, com muita disponibilidade e gentileza, foi essencial para o desenvolvimento deste projeto, e à professora Cláudia, da Universidade do Maranhão.

Aos meus amigos do laboratório, pela ajuda constante e pelo companheirismo durante toda a jornada. À Universidade de Araraquara, aos professores e funcionários, que proporcionaram todas as ferramentas necessárias para a minha formação.

À banca examinadora, pelo aceite e por toda a consideração dedicada ao trabalho.

E, por fim, agradeço à CAPES, à FAPESP e ao CNPq. Sem o suporte financeiro dessas instituições, a realização deste trabalho não seria possível.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
.....2.1. Objetivo Geral.....	16
.....2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
.....3.1. Preparação e análises do extrato etanólico 70% de sementes de <i>E. oleracea</i>	17
.....3.2. Avaliação da atividade antioxidante (ensaio DPPH).....	17
.....3.3. Avaliação da atividade prebiótica.....	18
.....3.4. Avaliação da citotoxicidade – Ensaio de redução da resazurina.....	19
.....3.5. Avaliação da mutagenicidade.....	20
3.5.1. Ensaio do micronúcleo.....	20
3.5.2. Teste de Ames.....	21
.....3.6. Análise Estatística.....	22
4. RESULTADOS	23
5. DISCUSSÃO	30
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIAS	37

RESUMO

O açaí (*Euterpe oleracea*) é amplamente reconhecido como um alimento funcional devido ao seu elevado valor nutricional e à presença de compostos bioativos. Suas sementes, que correspondem a aproximadamente 80 - 95% da massa total do fruto, constituem um subproduto agroindustrial promissor, porém ainda pouco explorado sob a perspectiva biotecnológica. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo investigar as propriedades antioxidante e prebiótica, bem como o perfil de segurança biológica do extrato etanólico 70% de sementes de *E. oleracea*, visando ampliar seu potencial de aplicação funcional. O extrato bruto das sementes foi obtido na Universidade Federal do Maranhão, por percolação utilizando etanol a 70% como solvente de extração. A atividade antioxidante foi avaliada pelo ensaio de sequestro do radical DPPH. A atividade prebiótica foi investigada por meio de fermentação submersa *in vitro* com *Lactobacillus paracasei*, acompanhando-se o crescimento microbiano e a acidificação do meio. A citotoxicidade foi analisada em células de adenocarcinoma colorretal humano (Caco-2), utilizando o ensaio de viabilidade celular baseado na redução da resazurina, enquanto a segurança genotóxica foi avaliada pelos testes de Ames e do micronúcleo. A análise química do extrato foi realizada por cromatografia líquida acoplado a um espectrômetro de massas (LC-MS), revelando a presença de compostos fenólicos, com procianidinas identificadas como os principais constituintes. Os resultados do potencial biológico demonstraram significativa capacidade antioxidante do extrato (EC_{50} de $11,79 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$), além de efeito prebiótico, evidenciado pelo estímulo ao crescimento de *L. paracasei* e pela redução do pH do meio de cultivo. O extrato apresentou baixo potencial citotóxico em células Caco-2, com valor de IC_{50} de $704,4 \pm 41,8 \mu\text{g/mL}$, e não induziu efeitos mutagênicos nos ensaios realizados, indicando um perfil de segurança favorável. Em conjunto, os dados obtidos evidenciam que o extrato etanólico de sementes de *E. oleracea* configura-se como um candidato natural multifuncional, reforçando a valorização desse subproduto agroindustrial e sustentando seu potencial para aplicações terapêuticas e nutracêuticas.

Palavras-chave: extratos vegetais, *Euterpe oleracea*; açaí; atividade prebiótica; antioxidantes naturais; avaliação genotoxicológica.

ABSTRACT

Açaí (*Euterpe oleracea*) is widely recognized as a functional food due to its high nutritional value and the presence of bioactive compounds. Its seeds, which correspond to approximately 80-95% of the total fruit mass, constitute a promising agro-industrial byproduct, but still little explored from a biotechnological perspective. Therefore, this study aimed to investigate the antioxidant and prebiotic properties, as well as the biological safety profile of a 70% ethanolic extract of *E. oleracea* seeds, aiming to expand its potential for functional application. The crude seed extract was obtained at the Federal University of Maranhão by percolation using 70% ethanol as the extraction solvent. Antioxidant activity was evaluated by the DPPH radical scavenging assay. Prebiotic activity was investigated through in vitro submerged fermentation with *Lacticaseibacillus paracasei*, monitoring microbial growth and acidification of the medium. Cytotoxicity was analyzed in human colorectal adenocarcinoma cells (Caco-2) using the resazurin reduction-based cell viability assay, while genotoxic safety was evaluated by Ames and micronucleus tests. Chemical analysis of the extract was performed by LC-MS, revealing the presence of phenolic compounds, with procyanidins identified as the main constituents. The results of the biological potential demonstrated significant antioxidant capacity of the extract (EC_{50} of $11.79 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$), in addition to a prebiotic effect, evidenced by the stimulation of *L. paracasei* growth and the reduction of the pH of the culture medium. The extract showed low cytotoxic potential in Caco-2 cells, with an IC_{50} value of $704.4 \pm 41.8 \mu\text{g/mL}$, and did not induce mutagenic effects in the assays performed, indicating a favorable safety profile. Taken together, the data obtained show that the ethanolic extract of *E. oleracea* seeds is a multifunctional natural candidate, reinforcing the value of this agro-industrial byproduct and supporting its potential for therapeutic and nutraceutical applications.

Keywords: plant extracts, *Euterpe oleracea*; açaí; prebiotic activity; natural antioxidants; genotoxicological evaluation.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABTS - Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico);

ANOVA – Análise de variância;

DMEM - *Dulbecco's Modified Eagle Medium*;

DMSO – Dimetilsulfóxido;

DO₆₀₀ - Densidade óptica;

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila;

FRAP – Poder antioxidante redutor do ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power*);

FBS – Soro bovino fetal;

GABA - γ -aminobutírico;

GRAS - *Generally Recognized As Safe*;

IM - Índice de mutagenicidade;

IPBC - Índice de proliferação com bloqueio da citocinese;

MRS - Man Rogosa e Sharpe;

MRS modificado – MRS sem glicose;

OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económicos;

ORAC – Capacidade de absorção do radical oxigênio (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*);

PBS - *Phosphate buffered saline*;

TEER - Resistência elétrica transepitelial;

TGF- β 1 - Fator de Crescimento Transformador Beta 1;

UFA - Unidades de fluorescência arbitrárias;

UV-Vis – Ultravioleta–Visível.

LISTA DE FIGURAS**Pág.**

Figura 1. Estruturas químicas dos compostos listados na Tabela 1, identificados no extrato de sementes de <i>Euterpe oleracea</i>	24
Figura 2. Avaliação do crescimento de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> em diferentes meios de cultivo durante a fermentação submersa <i>in vitro</i> , representada por (A) densidade óptica (DO ₆₀₀) e (B) variação do pH em 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas.....	26
Figura 3. Ensaio de viabilidade celular com a linhagem de células Caco-2 tratadas por 24 horas com diferentes concentrações do extrato de sementes de <i>Euterpe oleracea</i> (açáí)	27

LISTA DE TABELAS**Pág.**

Tabela 1. Compostos identificados no extrato da semente de açaí (<i>Euterpe oleracea</i>), obtidos por LC-ESI-IT/MS	23
Tabela 2. Atividade antioxidante do extrato da semente de <i>Euterpe oleracea</i> determinada pelo ensaio DPPH	25
Tabela 3. Frequência de micronúcleos e índice de proliferação de bloqueio de citocinese (IPBC) em células Caco-2 após 3 horas de tratamento com diferentes concentrações do extrato de sementes de <i>Euterpe oleracea</i> (açaí).....	28
Tabela 4. Média (M) e desvio padrão (DP) do número de revertentes/placa e índice de mutagenicidade (IM) em cepas de <i>Salmonella</i> Typhimurium TA98, TA100, TA102 e TA97a após tratamentos com diferentes concentrações do extrato de sementes de <i>Euterpe oleraceae</i> , em experimentos sem (-S9) e com (+S9) ativação metabólica	29

1. INTRODUÇÃO

O avanço das ciências fitoquímicas e fitofarmacológicas tem contribuído para a compreensão da composição e das atividades biológicas de diversos produtos vegetais medicinais, incluindo extratos vegetais. Estes produtos têm sido amplamente empregados globalmente desde tempos antigos para tratar e prevenir uma variedade de distúrbios. Sua aceitação na prática médica contemporânea se deve principalmente à sua disponibilidade e à menor incidência de reações adversas em comparação com fármacos sintéticos. A literatura científica e as investigações disponíveis evidenciam que muitas espécies de plantas possuem propriedades farmacológicas promissoras, como atividades analgésicas, anti-inflamatórias, antipiréticas, hipoglicêmicas, hipotensoras, antimicrobianas, antiúlcera e anticonvulsivantes (Uma *et al.*, 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as plantas medicinais representam uma fonte valiosa de diversos medicamentos, sendo que cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento depende de remédios tradicionais à base de produtos vegetais. Contudo, sua utilização tradicional permanece muitas vezes empírica, carecendo de definições claras quanto às doses e durações do tratamento. Assim, há uma necessidade premente de estudos químicos e farmacológicos que possam contribuir para padronização desses tratamentos, o que explica o interesse em numerosas investigações sobre diversos extratos de plantas medicinais, com o intuito de identificar novos compostos terapêuticos mais eficazes (Uma *et al.*, 2017; Tran *et al.*, 2020; WHO 2013; Veiga *et al.*, 2020).

A família Arecaceae é amplamente distribuída, compreendendo cerca de 2.600 espécies em 181 gêneros, das quais 48 são nativas do Brasil e ocorrem em biomas de transição entre a Amazônia, o Cerrado e a Caatinga (Souza *et al.*, 2020). Os gêneros *Geonoma*, *Syagrus*, *Bactris*, *Atallea*, *Allagoptera*, *Astrocaryum* e *Euterpe* destacam-se pelo maior número de ocorrências em todo o mundo (Morais *et al.*, 2022). Além de serem utilizados como fonte de alimentação e subsistência, as palmeiras dessa família são ricas em compostos bioativos lipofílicos, principalmente carotenoides, ácidos graxos poli-insaturados, tocoferóis e vitamina A, além de possuírem um considerável teor de compostos fenólicos, fibras e minerais. Por isso, são utilizadas também na produção de combustíveis, medicamentos populares, fibras, abrigo forrageiro e no artesanato tradicional (Souza *et al.*, 2020).

O gênero *Euterpe*, especialmente as espécies *Euterpe oleracea* Martius, *Euterpe precatória* Martius e *Euterpe edulis* Martius, ganhou recentemente notoriedade comercial e

científica devido ao alto valor nutricional de seus frutos, ricos em polifenóis, como ácidos fenólicos e antocianinas, apresentando potente atividade antioxidante (Silva *et al.*, 2023a).

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Martius) é cultivado há milhares de anos nas regiões tropicais da América Central e do Sul como planta alimentar polivalente (Laurindo *et al.*, 2023). Encontrado na Venezuela, na Guiana e na Amazônia brasileira, especialmente no estuário do rio Amazonas, nos estados do norte e nordeste, é popularmente conhecido como açai-do-Pará (Silva *et al.*, 2023b). O açai é uma das principais culturas extrativistas sustentáveis da região amazônica, amplamente consumido pela população local e um importante produto de exportação (Amorim *et al.*, 2023). Embora cultivado em sua terra indígena há milhares de anos como uma planta dietética multiuso, a recente introdução do açai e de suas qualidades nutricionais e curativas em regiões fora de sua origem expandiu rapidamente a demanda global pelo fruto, tornando o Brasil seu mais importante produtor e exportador (Laurindo *et al.*, 2023; Silveira *et al.*, 2023). O açazeiro produz de 5 a 7 cachos viáveis por planta, resultando, em média, em 25 kg de frutos por planta por ano, com produtividade máxima de 12 toneladas de frutos por hectare por ano (Souza *et al.*, 2020).

As propriedades de promoção da saúde e prevenção de doenças desta planta são atribuídas a numerosos compostos fenólicos bioativos, como antocianinas, proantocianidinas e outros flavonóides, presentes na folha, polpa, fruto, casca e sementes (Laurindo *et al.*, 2023; Silveira *et al.*, 2023). Estudos já demonstraram as propriedades antidiarreicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antinociceptivas, anticonvulsivantes, antiangiogênica, antimicrobiana, antileishmania, antienvelhecimento e neuroprotetora relacionadas a extratos e óleo do açai (Magalhães *et al.*, 2020).

Recentemente, Silva *et al.* (2023a) investigaram os efeitos do óleo de semente de açai em células de adenocarcinoma colorretal. Os resultados mostraram um aumento da apoptose nas células CACO-2 e HCT-116 e interferência no ciclo celular após os tratamentos, sugerindo o potencial antitumoral do óleo de semente de açai, contribuindo para o desenvolvimento de um fármaco ativo a partir de um produto natural conhecido. O extrato de semente de açai, rico em fenólicos, também induziu potentes efeitos renoprotetores e antifibróticos através da sua atividade antioxidante e da modulação da via do TGF- β 1 quando avaliado em camundongos com insuficiência renal (Monteiro *et al.*, 2022).

Além da alta capacidade antioxidante, protetora contra o câncer devido aos compostos fenólicos, principalmente flavonoides (Martinez *et al.*, 2018), a semente de açai tem sido utilizada para diversas aplicações, como produção de carvão para sorção de azul de metileno (Pessôa *et al.*, 2019), e outras aplicações biomédicas, como biochar para condicionamento de

solo (Sato *et al.*, 2020), enriquecimento de leveduras residuais (*Saccharomyces cerevisiae*) e produção de carbono nanoporoso para captura de CO₂ (Souza *et al.*, 2020). O reaproveitamento de sementes de açaí é uma abordagem orgânica para valorização da biomassa, incentivando as políticas públicas de economia circular, que reduzem o impacto humano nos processos da cadeia produtiva (Martins *et al.*, 2021).

Diante do exposto, o presente estudo visa contribuir para a avaliação das propriedades biológicas e da segurança do extrato de sementes de *E. oleracea*, ampliando o conhecimento sobre seu potencial funcional e biotecnológico. Para isso, foram avaliadas a atividade antioxidante e prebiótica, bem como a citotoxicidade e o potencial mutagênico do extrato, fornecendo subsídios para seu uso seguro em aplicações terapêuticas e nutracêuticas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar propriedades biológicas e a segurança do extrato etanólico 70% de sementes de *E. oleracea*.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar a capacidade antioxidante do extrato da semente de *E. oleracea*;
- Avaliar a atividade prebiótica do extrato de sementes de *E. oleracea*;
- Avaliar a citotoxicidade do extrato da semente de *E. oleracea* em células de adenocarcinoma colorretal humano (células Caco-2);
- Investigar o potencial mutagênico em nível cromossômico do extrato de semente de *E. oleracea* em células Caco-2;
- Investigar o potencial mutagênico em nível gênico do extrato de semente de *E. oleracea*, em experimentos com e sem ativação metabólica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Preparação e análises do extrato etanólico 70% de sementes de *E. oleracea* Mart.

O extrato das sementes de *E. oleracea* foi preparado e fornecido pelo grupo de pesquisa coordenado pela Profa Dra Cláudia Quintino da Rocha da Universidade Federal do Maranhão.

As sementes de açaí foram secas em estufa a 40-50 °C e moídas em moinho de facas. Para a extração de 100 g de sementes de açaí secas, utilizou-se um volume total de 2 L de etanol a 70%, na proporção de 7:3. A extração foi realizada por percolação exaustiva, utilizando ciclos de extração de 24 h, durante os quais foram adicionados 150 mL de etanol a 70% em cada ciclo. Após a extração, o extrato líquido foi filtrado e submetido à evaporação rotativa a vácuo a uma temperatura inferior a 40 °C. O extrato concentrado foi posteriormente liofilizado por 48 h a -95 °C e pressão de 12 µHg.

O extrato foi analisado utilizando um sistema de cromatografia líquida Shimadzu Prominence com duas bombas injetoras automáticas Shimadzu LC-20AD (SIL-20A HT). O sistema de cromatografia líquida (LC) foi acoplado a um espectrômetro de massas (MS, Amazon X, Bruker, Massachusetts, EUA) equipado com ionização por electrospray (ESI) e um analisador do tipo armadilha iônica (IT) no modo negativo.

3.2. Avaliação da atividade antioxidante (ensaio DPPH)

A atividade antioxidante do extrato de sementes de *E. oleracea* foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), utilizando microplacas de 96 poços, de acordo com a metodologia descrita por Rufino *et al.* (2010), com adaptações.

Em cada poço da microplaca foram adicionados 20 µL da amostra-teste e 200 µL de solução de DPPH preparada em etanol (0,05 mg/mL). O extrato, previamente solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO, 0,1% v/v) e etanol, foi avaliado em concentrações finais que variaram de 1,5 a 50 µg/mL. Para o controle negativo, foram adicionados 20 µL de etanol e 200 µL da solução de DPPH•, enquanto o branco da reação foi constituído por 20 µL da amostra e 200 µL de etanol, permitindo a correção de possíveis interferências na absorbância do extrato. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata.

As microplacas foram incubadas sob proteção da luz, à temperatura ambiente, por 20 minutos. Após o período de incubação, as leituras de absorbância foram realizadas a 517 nm em espectrofotômetro UV-Vis. A porcentagem de inibição do radical DPPH• (I%) foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ Inibição} = + \frac{(A_o - A_t)}{A_o} 2 \times 100$$

em que A_o corresponde à absorbância do controle negativo e A_t à absorbância na presença do extrato.

A concentração eficaz capaz de reduzir 50% do radical DPPH• (EC_{50}) foi determinada por análise de regressão linear a partir da curva de inibição em função da concentração do extrato, utilizando o software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Para a quantificação da atividade antioxidante em equivalentes de Trolox, foi obtida uma curva padrão utilizando o antioxidante Trolox [(±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico] nas concentrações de 100 a 600 $\mu\text{mol/L}$. Os valores de inibição obtidos para o extrato foram interpolados na curva de calibração ($y = 0,147x - 9,8297$; $R^2 = 0,9943$), sendo os resultados expressos em μmol de equivalente de Trolox (TEAC - *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) por grama de amostra.

3.3. Avaliação da atividade prebiótica

O potencial prebiótico do extrato de sementes de *E. oleracea* foi investigado por meio da avaliação do crescimento de *L. paracasei*, com base na metodologia descrita por Mashudin *et al.* (2024), adaptada com modificações.

Inicialmente, a cultura de *L. paracasei* foi reativada em caldo Man Rogosa e Sharpe (MRS) na concentração de 2% v/v e incubada a 37 °C sob agitação constante (120 rpm) por 48 horas. Após o período de incubação, a cultura bacteriana foi centrifugada a 2000 rpm por 20 minutos a 4 °C (modelo 7000, Kubota, Japão), e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, para padronização do inóculo, o pellet foi ressuspenso em água ultrapura estéril e ajustado para uma densidade óptica de 0,8 a 600 nm (DO_{600}).

Para avaliar o efeito do extrato sobre o crescimento de *L. paracasei*, foi preparado o meio MRS modificado, isento de carboidratos. A formulação foi obtida pela substituição da glicose do meio padrão de MRS por extrato de sementes de *E. oleracea* (20 g/L), mantendo os demais componentes inalterados. Foram testados: MRS com glicose a 2% p/v, MRS sem glicose (MRS modificado) e MRS modificado contendo 20 g/L de extrato de açaí, previamente filtrado em membrana de 0,22 μm (Millipore).

Cada frasco, contendo 50 mL do respectivo meio de cultura, recebeu 0,5 mL do inóculo padronizado de *L. paracasei*, resultando em uma DO_{600} final de 0,8. A DO_{600} foi utilizada como

estimativa indireta da concentração celular, sendo proporcional à densidade bacteriana e mensurada por espectrofotometria, utilizando um branco de meio como referência.

As fermentações submersas *in vitro* foram conduzidas a 37 °C, com agitação a 120 rpm, durante 24 horas. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas, sendo centrifugadas nas mesmas condições descritas anteriormente para separação da biomassa.

O crescimento bacteriano foi monitorado por turbidimetria, com leituras da absorbância a 600 nm em espectrofotômetro UV-Vis (LAMBDA™ 365, Perkin Elmer, Brasil), utilizando como branco o respectivo meio isento de células. Paralelamente, o pH das culturas foi medido nos mesmos intervalos de tempo (0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas), utilizando um medidor digital de pH (SevenExcellence™, Mettler-Toledo GmbH, Suíça), com o objetivo de avaliar a produção de ácidos orgânicos durante o crescimento de *L. paracasei* nos diferentes meios.

3.4. Avaliação da citotoxicidade – Ensaio de redução da resazurina

A viabilidade celular foi avaliada em células de adenocarcinoma coloretal humano (Caco-2, BCRJ n° 0059), pelo ensaio baseado na redução da resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido), conforme descrito por Page *et al.* (1993), com adaptações. Este corante azul, não fluorescente, é reduzido de forma irreversível pelas enzimas desidrogenases presentes apenas em células metabolicamente ativas, originando a resorufina, um composto rosa altamente fluorescente (Rampersad, 2012). Dessa forma, a intensidade de fluorescência está diretamente relacionada à atividade metabólica celular. Esse ensaio fornece uma evidência inicial sobre a segurança do extrato em células eucarióticas e foi utilizado para identificar concentrações não citotóxicas adequadas para os ensaios subsequentes.

As células foram cultivadas em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM; Gibco, Waltham, MA, EUA), suplementado com 20% de soro bovino fetal (FBS, Gibco), a 37 °C em atmosfera de 5% de dióxido de carbono (CO₂) e 95% de ar sob umidade saturada.

Para o ensaio, as células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 1,0 x 10⁴ células/poço e incubadas por 24 horas nas condições de cultivo já descritas para promover a adesão celular. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas do extrato vegetal, previamente solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO, 0,1% v/v) e meio DMEM, obtendo-se concentrações finais que variaram de 31,25 a 1000 µg/mL. Foram incluídos os seguintes controles: negativo (meio completo), solvente (0,1% de DMSO) e positivo (50% de DMSO). Todos os tratamentos foram conduzidos em triplicata e repetidos em três experimentos independentes.

Após 24 horas de tratamento, o meio foi removido e adicionados 50 µL da solução de resazurina a 0,01% (m/v) a cada poço, com posterior incubação por 4 horas nas mesmas condições. A fluorescência foi então medida em um espectrofotômetro de fluorescência Synergy H1 (BioTek®), com filtros de excitação e emissão nos comprimentos de onda de 560 e 590 nm, respectivamente. Os resultados foram expressos em unidades de fluorescência arbitrárias (UFA), sendo o valor obtido para o controle negativo (células não tratadas) considerado como 100% de viabilidade celular. A concentração inibitória média (IC₅₀), definida como a concentração da amostra capaz de reduzir em 50% a viabilidade celular em relação ao controle, foi determinada utilizando o software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

3.5. Avaliação da mutagenicidade

3.5.1. Ensaio do micronúcleo

O ensaio de micronúcleo foi realizado para avaliar danos cromossômicos induzidos pelo extrato de sementes de *E. oleracea* em culturas de células Caco-2. Essa metodologia foi empregada conforme o protocolo descrito por Fenech (2007), com adaptações. As células foram expostas a três diferentes concentrações do extrato (62,5, 125 e 250 µg/mL) e aos controles experimentais por um período de 3 horas.

Inicialmente, as células foram semeadas em placas de 6 poços, na densidade de 1×10^5 células por poço. Após 24 horas de incubação para adesão celular, foram realizados os tratamentos com o extrato. O controle negativo consistiu no meio de cultura completo; o controle do solvente foi composto por dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,1% (v/v); e o controle positivo foi realizado com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 100 µM, utilizado como agente indutor de danos genotóxicos.

Após o período de tratamento, as células foram lavadas e, em seguida, incubadas com citocalasina B (20 µL/poço, 3,0 µg/mL) por um ciclo e meio de divisão celular, a fim de inibir a citocinese. Em seguida, as células foram tripsinizadas, centrifugadas a 900 rpm por 5 minutos, e o pellet obtido foi ressuspensão em solução hipotônica gelada de cloreto de potássio (KCl, 0,075 M, Sigma). Posteriormente, a fixação foi realizada com solução de metanol:ácido acético (3:1), sendo o procedimento repetido duas vezes.

A suspensão celular obtida foi gotejada em lâminas previamente limpas e mantidas em água destilada gelada. Em seguida, as lâminas foram deixadas à temperatura ambiente até a

secagem completa, coradas com Giemsa e analisadas em microscópio óptico utilizando objetiva de 40x.

Foram avaliadas 3000 células binucleadas viáveis por tratamento (1000 por repetição), utilizando os critérios morfológicos para identificação de micronúcleos estabelecidos por Fenech (2007). Além disso, foram analisadas 500 células viáveis por repetição (mononucleadas, binucleadas e multinucleadas) para o cálculo do índice de proliferação com bloqueio da citocinese (IPBC), a fim de complementar a análise com dados relacionados à citotoxicidade e à interferência na progressão do ciclo celular.

O IPBC foi calculado conforme a equação abaixo descrita pela OECD (2016):

$$IPBC = \frac{(n^{\circ} \text{ cls mononucleadas}) + 2(n^{\circ} \text{ cls binucleadas}) + 3(n^{\circ} \text{ cls multinucleadas})}{500}$$

3.5.2. Teste de Ames

O teste de Ames foi utilizado para avaliar a mutagenicidade em nível gênico do extrato de semente de *E. oleracea*. Para tanto, foram utilizadas as cepas TA98, TA97a, TA100 e TA102 de *Salmonella* Typhimurium, gentilmente fornecidas pelo Dr. Bruce Ames, da Universidade de Berkeley, Califórnia (EUA). Os experimentos foram realizados na presença e ausência de ativação metabólica (mistura S9).

As culturas bacterianas foram obtidas a partir de estoques congelados, semeadas em caldo nutriente (Oxoid n. 2) e incubadas a 37 °C por 16 horas sob agitação para atingirem a densidade adequada de 1-2 x10⁹ bactérias/ mL. O ensaio foi realizado pelo método de pré-incubação descrito por Maron e Ames (1983), utilizando cinco concentrações do extrato, previamente determinadas com base na solubilidade e na toxicidade, avaliada na linhagem TA100. A toxicidade foi evidenciada pela redução no número de colônias revertentes His⁺.

Nos tubos de ensaio, as diferentes concentrações do extrato (62,5 a 500 µg/mL) foram homogeneizadas com 0,5 mL de 0,2 M de tampão fosfato (sem ativação) ou 0,5 mL de 4% de mistura S9 (com ativação metabólica) e 0,1 mL da cultura bacteriana. Essa mistura foi incubada a 37 °C por 20 minutos.

A fração S9 permite avaliar se a amostra-teste é mutagênica em sua forma original ou após ativação metabólica. A mistura S9, mantida em banho de gelo durante todo o ensaio, foi preparada no momento do uso e consistiu em 4% de fração S9, 1% de 0,4 M de cloreto de magnésio, 1% de 1,65 M de cloreto de potássio, 0,5% de 1 M de glicose-6-fosfato e 4% de 0,1

M de *b*-nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato 0,1 M, além de 50% de 0,2 M de tampão fosfato pH 7,4 e 39,5% de água destilada estéril (Maron; Ames, 1983).

Após a incubação, foram adicionados 2 mL de top agar suplementado com histidina e biotina. A mistura foi homogeneizada e vertida sobre placas contendo meio mínimo glicosado. Após solidificação, as placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas. As colônias revertentes foram então contadas manualmente. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Foram utilizados agentes mutagênicos padrão para validar a especificidade de cada cepa: 4-nitro-*o*-fenilenodiamina (10 µg / placa) para TA98 e TA97a, azida sódica (1,25 µg / placa) para TA100 e mitomicina C (0,5 µg / placa) para TA102 (sem ativação); e 2-aminoantraceno (1,25 µg/placa) para TA98, TA97a e TA100, e 2-aminofluoreno (10 µg/placa) para TA102 nos experimentos com metabolização. Também foram incluídos controles negativos (solvente, 100 µL/placa de DMSO) e espontâneos (sem tratamento).

A partir da média do número de colônias revertentes, foi calculado o índice de mutagenicidade (IM), definido como a razão entre o número de colônias revertentes obtido com o extrato e o número obtido com o controle negativo (solvente). A amostra é considerada mutagênica quando apresenta um aumento estatisticamente significativo no número de revertentes, e o IM for igual ou superior a 2 em pelo menos uma das concentrações testadas (Mortelmans e Zeiger, 2000).

3.6. Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente com o auxílio do software GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA), utilizando análise de variância (ANOVA) *One-way* para determinação de significância estatística, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, adotando-se o nível de significância de $p < 0,05$. O critério experimental adotado foi a identificação de diferenças significativas entre os grupos tratados e o controle negativo (sem tratamento).

Para o teste de Ames, os resultados foram avaliados utilizando o programa estatístico Salanal (U.S. Environmental Protection Agency, Monitoring Systems Laboratory, Las Vegas, NV, versão 1.0, do Research Triangle Institute, RTP, Carolina do Norte, EUA), com base no modelo estatístico descrito por Bernstein *et al.* (1982). A análise envolveu ANOVA seguida de regressão linear.

4. RESULTADOS

A análise do extrato de sementes de açaí por LC-ESI-IT/MS resultou na identificação de 12 compostos, predominantemente pertencentes às classes dos ácidos fenólicos e das proantocianidinas. Foi identificado um derivado hexosilado de ácido cafeico (m/z 341) e, majoritariamente, proantocianidinas em diferentes graus de polimerização, incluindo dímeros, trímeros e tetrâmeros dos tipos A e B (m/z 577–1155). Catequina (m/z 289) e cinamotanina D1 (m/z 863) também foram identificados (Tabela 1 e Figura 1).

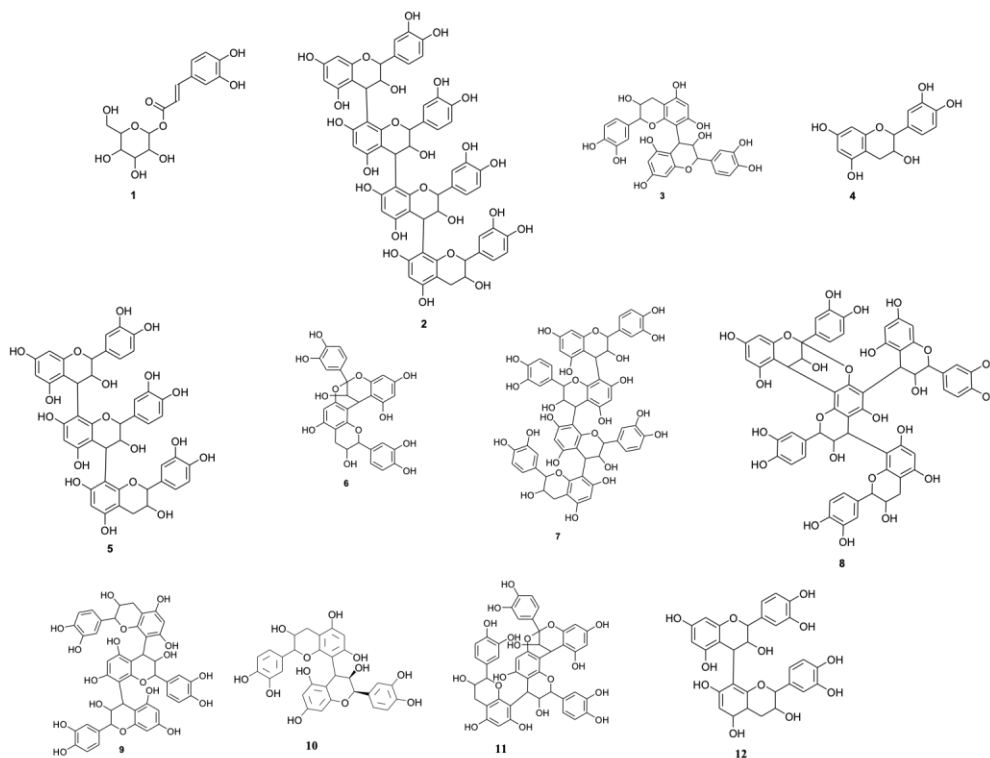
Tabela 1. Compostos identificados no extrato da semente de açaí (*Euterpe oleracea*), obtidos por LC-ESI-IT/MS

ID	[M-H] ^a	MS ⁿ ^b	Compostos
1	341	179	Hexosídeo de ácido cafeico
2	1153	577; 289	Procianidina tetrâmero tipo B
3	577	289	Proantocianidina B2
4	289	205	Catequina
5	865	695; 577; 407; 287	Procianidina trímero
7	1155	983; 865; 577	Procianidina tetrâmero
8	1151	863; 577; 289	Procianidina tetrâmero tipo A
9	865	739; 500; 285	Procianidina C1
10	577	407; 287	Procianidina B2
11	863	863; 575; 289	Cinamotanina D1
12	577	425; 289	Procianidina dímero tipo B

^aDesprotonação

^bFragmentações em múltiplos estágios

Figura 1. Estruturas químicas dos compostos listados na Tabela 1, identificados no extrato de sementes de *Euterpe oleracea*



A atividade antioxidante do extrato da semente de *E. oleracea* foi avaliada pelo ensaio de sequestro do radical DPPH•, a partir do qual foram determinados os valores de EC₅₀ e de equivalentes de Trolox (TE). Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

O extrato apresentou EC₅₀ de $11,79 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$, indicando elevada capacidade de sequestro do radical DPPH•. Em comparação, o antioxidante padrão Trolox apresentou EC₅₀ de $83,5 \pm 3,5 \mu\text{g/mL}$ nas mesmas condições experimentais.

Com base na interpolação dos valores de inibição na curva de calibração de Trolox, a atividade antioxidante do extrato foi expressa como $3387,35 \pm 55 \mu\text{mol TE/g}$ de extrato, reforçando o elevado potencial antioxidante da amostra avaliada.

Tabela 2. Atividade antioxidante do extrato da semente de *Euterpe oleracea* determinada pelo ensaio DPPH

	TEAC	EC ₅₀ (µg/mL)
Extrato de <i>E. oleracea</i>	3387,35 ± 55	11,79 ± 0,9
Trolox	-	83,5 ± 3,5

Resultados expressos como média ± desvio padrão; radical livre DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; TEAC: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µmol de equivalente de Trolox por grama de amostra); EC₅₀: concentração necessária para reduzir 50% do radical DPPH•

Diante do potencial antioxidante observado, procedeu-se à avaliação da atividade prebiótica do extrato sobre o crescimento de *Lactocaseibacillus paracasei*, por meio de fermentação submersa *in vitro*. Para esse fim, foram monitorados a densidade óptica (DO) e o pH ao longo de 24 horas de cultivo, com o objetivo de acompanhar o crescimento bacteriano e a atividade metabólica associada.

Conforme mostrado na Fig. 2, a densidade celular foi significativamente influenciada ($p < 0,05$) pela composição dos meios de cultivo utilizados. No meio MRS sem glicose (MRS modificado), observou-se, nas primeiras 2 horas, a fase de latência - período em que as células ainda estão se adaptando ao ambiente, com pouca variação na DO. Por outro lado, nos meios suplementados com glicose (MRS) ou extrato de açaí, a bactéria rapidamente entrou em fase de crescimento exponencial, com aumento progressivo da DO ao longo do tempo. Em ambos os casos, o aumento da densidade celular pode ser atribuído à presença de açúcares prontamente fermentáveis, utilizados como fonte de energia por *L. paracasei*.

A DO₆₀₀ no grupo tratado com o extrato de açaí variou de 0,889 (tempo 0 h) a 1,818 (tempo 24 h), superando ligeiramente os valores obtidos no meio MRS com glicose, que variaram de 0,889 a 1,663, indicando a efetividade do extrato como substrato fermentável com efeito positivo na viabilidade e crescimento bacteriano (Fig. 2A).

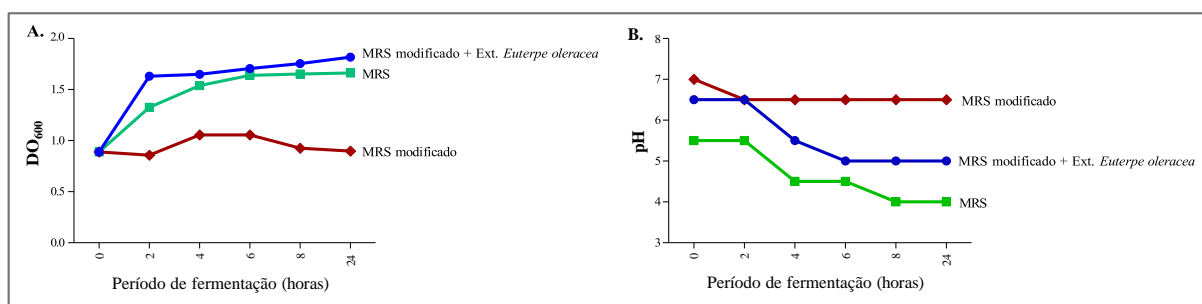
Por outro lado, o meio MRS sem glicose apresentou crescimento bacteriano limitado. A DO aumentou até 1,056 nas primeiras 6 horas, mas caiu para 0,898 ao final de 24 horas (Fig. 2A), o que reforça a importância de fontes de carbono acessíveis para a manutenção da viabilidade e proliferação bacteriana.

A análise do pH complementa os dados de crescimento (Fig. 2B). A queda gradual do pH nos grupos com glicose (de 5,5 para 4,0) e com extrato de açaí (de 6,5 para 5,0) é compatível com a produção de ácidos orgânicos, como o ácido lático, típicos do metabolismo de bactérias

ácido-láticas. Já no meio sem glicose, a variação foi discreta, de pH 7,0 para 6,5, indicando baixa atividade fermentativa nesse grupo.

Esses resultados indicam a capacidade do extrato de sementes de açaí em promover o crescimento de *L. paracasei*. A presença de compostos bioativos como polifenóis e açúcares naturais pode ter favorecido tanto a adaptação quanto a atividade metabólica da cepa testada, demonstrando o potencial do extrato como ingrediente prebiótico.

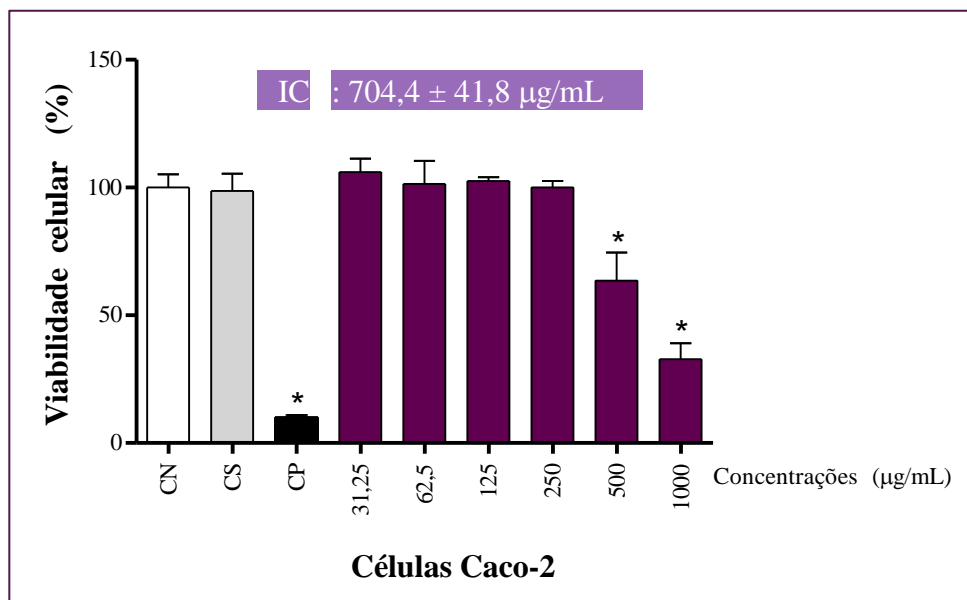
Figura 2. Avaliação do crescimento de *Lactocaseibacillus paracasei* em diferentes meios de cultivo durante a fermentação submersa *in vitro*, representada por (A) densidade óptica (DO₆₀₀) e (B) variação do pH em 0, 2, 4, 6, 8 e 24 horas



MRS: caldo Man Rogosa e Sharpe suplementado com glicose; MRS modificado: caldo MRS sem glicose; MRS modificado (sem glicose) suplementado com extrato de sementes de *Euterpe oleracea* (açaí, 20g/L).

Dada a relevância da análise toxicológica para aplicações seguras, a viabilidade celular de células Caco-2 foi avaliada após o tratamento com o extrato de sementes de *E. oleracea*. Os resultados, expressos em porcentagem de células viáveis, estão apresentados na Fig. 3. Após 24 horas de exposição ao extrato, observou-se uma redução estatisticamente significativa na viabilidade celular apenas nas concentrações mais elevadas (500 e 1000 µg/mL) quando comparadas aos controles negativo (sem tratamento) e solvente (0,1% v/v de DMSO). O valor obtido de IC₅₀ foi de 704,4 ± 41,8 µg/mL, evidenciando o baixo potencial citotóxico do extrato nas condições testadas.

Figura 3. Ensaio de viabilidade celular com a linhagem de células Caco-2 tratadas por 24 horas com diferentes concentrações do extrato de sementes de *Euterpe oleracea* (açai)



*Significativamente diferente do controle negativo (ANOVA, Tukey, $p < 0,05$). Os valores estão apresentados como média e desvio-padrão da porcentagem calculada da viabilidade celular. IC₅₀ (concentração inibitória média): concentração da amostra-teste necessária para inibir 50% da viabilidade celular, calculada no software GraphPad Prism 7.0.

CN (Controle Negativo): células cultivadas em meio DMEM suplementado com 20% de soro bovino fetal (FBS); viabilidade celular de $100 \pm 5,2\%$.

CS (Controle Solvente): células expostas a 0,1% v/v de dimetilsulfóxido (DMSO); viabilidade celular de $98,7 \pm 6,8\%$.

CP (Controle Positivo): células expostas a 50% v/v de DMSO; viabilidade celular de $10,03 \pm 0,8\%$.

Para complementar a avaliação toxicológica e investigar possíveis efeitos mutagênicos, o extrato de sementes de *E. oleracea* foi avaliado por meio do ensaio de micronúcleo *in vitro* também em células Caco-2 (Tabela 3) e pelo teste de Ames, nas linhagens TA97a, TA98, TA100 e TA102 de *S. Typhimurium*, na presença (+S9) e ausência (-S9) de ativação metabólica (Tabela 4).

Os resultados demonstraram que, em nenhuma das concentrações testadas, o extrato induziu aumento estatisticamente significativo na frequência de micronúcleos em comparação ao controle negativo. Também não foram observadas alterações estatisticamente significativas nos valores do IPBC, indicando que o extrato não interferiu no estado proliferativo das células, o que está em concordância com os dados obtidos nos ensaios de citotoxicidade. O IPBC do controle negativo foi de $1,82 \pm 0,02$, enquanto os valores observados nos grupos tratados com

o extrato variaram de $1,80 \pm 0,02$ a $1,84 \pm 0,08$. Por outro lado, o peróxido de hidrogênio, utilizado como controle positivo, provocou uma redução estatisticamente significativa nos valores de IPBC ($1,65 \pm 0,08$) comparado ao controle negativo, além do aumento na frequência de micronúcleos ($32,5 \pm 9,5$), confirmando seu potencial genotóxico e a sensibilidade do sistema-teste utilizado (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência de micronúcleos e índice de proliferação de bloqueio de citocinese (IPBC) em células Caco-2 após 3 horas de tratamento com diferentes concentrações do extrato de sementes de *Euterpe oleracea* (açai)

Tratamentos	MNs ^a	IPBC ^b
CN	$4,0 \pm 0,7$	$1,82 \pm 0,02$
CS	$5,0 \pm 0,7$	$1,80 \pm 0,05$
CP	$32,5 \pm 9,5^*$	$1,65 \pm 0,08$
$\mu\text{g/mL}$	Extrato de semente de <i>Euterpe oleracea</i>	
62,5	$5,0 \pm 1,0$	$1,82 \pm 0,04$
125	$4,3 \pm 0,5$	$1,84 \pm 0,08$
250	$4,0 \pm 1,2$	$1,80 \pm 0,02$

Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão do número de micronúcleos (MNs) em 1000 células binucleadas e do índice de proliferação de bloqueio de citocinese (IPBC) em 500 células, por replicata e por grupo experimental. O experimento foi realizado em triplicata. CN (Controle Negativo): células cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro bovino fetal; CS (Controle Solvente): células expostas a 0,1% v/v de dimetilsulfóxido (DMSO); CP (Controle Positivo): células expostas a 100 μM de peróxido de hidrogênio. *Estatisticamente diferente do CN ($p < 0,05$, ANOVA seguido pelo teste de Tukey).

No teste de Ames, os dados, expressos como média de colônias revertentes por placa (M), desvio padrão (DP) e índice de mutagenicidade (IM), indicaram que o extrato não provocou aumento estatisticamente significativo no número de revertentes em nenhuma das linhagens ou condições testadas (Tabela 4). Além disso, os valores do IM permaneceram abaixo de 2 em todas as condições experimentais, confirmando a ausência de atividade mutagênica nas condições testadas.

Tabela 4. Média (M) e desvio padrão (DP) do número de revertentes/placa e índice de mutagenicidade (IM) em cepas de *Salmonella* Typhimurium TA98, TA100, TA102 e TA97a após tratamentos com diferentes concentrações do extrato de sementes de *Euterpe oleraceae*, em experimentos sem (-S9) e com (+S9) ativação metabólica

Número de revertentes (M ± DP)/ placa e IM								
	TA98		TA100		TA102		TA97a	
µg/placa	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
CN	24 ± 3	21 ± 4	108 ± 13	117 ± 18	306 ± 23	209 ± 37	115 ± 21	138 ± 28
CE	26 ± 8	28 ± 2	113 ± 11	112 ± 27	308 ± 36	204 ± 22	127 ± 14	135 ± 11
CP	733 ± 35 ^{*a}	1344 ± 143 ^{*d}	1024 ± 43 ^{*b}	1470 ± 137 ^{*d}	1974 ± 127 ^{*.c}	1253 ± 119 ^{*e}	1203 ± 98 ^{*a}	1377 ± 60 ^{*d}
µg/placa	Extrato de semente de <i>Euterpe oleracea</i>							
62,5	25 ± 4 (1,02)	24 ± 1 (1,12)	120 ± 11 (1,11)	130 ± 29 (1,11)	319 ± 34 (1,04)	220 ± 21 (1,05)	125 ± 18 (1,08)	145 ± 14 (1,05)
125	23 ± 4 (0,94)	23 ± 4 (1,10)	124 ± 19 (1,14)	139 ± 14 (1,18)	312 ± 21 (1,02)	229 ± 13 (1,10)	128 ± 19 (1,11)	148 ± 22 (1,07)
250	25 ± 1 (1,04)	21 ± 1 (1,00)	110 ± 14 (1,01)	125 ± 13 (1,07)	320 ± 37 (1,05)	221 ± 39 (1,06)	120 ± 26 (1,04)	164 ± 16 (1,18)
375	28 ± 8 (1,17)	23 ± 6 (1,07)	121 ± 12 (1,12)	119 ± 24 (1,02)	299 ± 40 (0,98)	226 ± 27 (1,08)	131 ± 14 (1,14)	136 ± 20 (0,99)
500	26 ± 3 (1,08)	24 ± 9 (1,12)	112 ± 26 (1,04)	103 ± 17 (0,88)	318 ± 28 (1,04)	190 ± 14 (0,91)	114 ± 11 (0,99)	139 ± 37 (1,01)

* $p < 0,05$ (ANOVA), M ± DP = média e desvio padrão; IM = índice de mutagenicidade; Controle negativo: dimetilsulfóxido (DMSO - 100 µL/placa); C + = Controle positivo: ^a4-nitro-*o*-fenilenodiamina (TA98 e TA97a, 10,0 µg/placa); ^bazida sódica (TA100, 1,25 µg/placa); ^cmitomicina C (TA102, 0,5 µg/placa), na ausência de S9 e ^d2-antramine (TA98, TA100, TA 97a, 1,25 µg/placa), ^e2-aminofluoreno (TA102, 10,0 µg/placa), na presença de S9.

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, foram investigadas propriedades biológicas e o perfil de segurança do extrato de sementes de *E. oleracea* (açai), com ênfase em suas atividades antioxidante e prebiótica, bem como em seus potenciais efeitos citotóxicos e mutagênicos.

O açai é reconhecido pelo seu elevado valor nutricional e pela presença de compostos bioativos com efeitos benéficos à saúde humana. Tanto a polpa quanto as sementes apresentam concentrações expressivas de fitoquímicos, com destaque para os compostos fenólicos, especialmente as antocianinas, responsáveis pela coloração característica do fruto e amplamente descritas por sua capacidade antioxidante (Wang *et al.*, 2022; Laurindo *et al.*, 2023).

De acordo com a revisão de Laurindo *et al.* (2023), o perfil químico da polpa de açai é constituído por aproximadamente 25,5% de polifenóis, enquanto as sementes apresentam um conteúdo ainda mais elevado, em torno de 28,3%. Entre os principais constituintes fenólicos destacam-se a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo, além da presença de ácidos graxos como os ácidos láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico, oleico e linoleico. Esses dados evidenciam o potencial das sementes como uma fonte rica e ainda subexplorada de compostos bioativos.

A análise da composição química por LC-MS obtida do extrato deste estudo confirmou a predominância de proantocianidinas como os principais constituintes.

Apesar desse notável potencial fitoquímico, as sementes de açai, que correspondem de 80% a 95% do volume total do fruto, são frequentemente descartadas durante o processamento industrial da polpa, contribuindo para impactos ambientais e econômicos relevantes (Melo *et al.*, 2021; Laurindo *et al.*, 2023). Nesse contexto, a investigação científica das sementes surge como uma estratégia promissora, tanto para a mitigação desses impactos quanto para a prospecção de aplicações biológicas e funcionais de alto valor agregado (Previtalli-Silva *et al.*, 2024).

No presente estudo, o extrato de sementes de *E. oleracea* apresentou significativa capacidade antioxidante quando avaliado pelo ensaio de sequestro do radical DPPH, com valor de $3387,35 \pm 55$ μmol de equivalentes de Trolox por grama de extrato (TE/g) e EC_{50} de $11,79 \pm 0,9$ $\mu\text{g/mL}$. O extrato demonstrou maior eficiência antioxidante em comparação ao padrão Trolox, que apresentou EC_{50} de $83,5 \pm 3,5$ $\mu\text{g/mL}$, evidenciando sua expressiva capacidade de neutralização de radicais livres.

O ensaio DPPH é amplamente empregado em pesquisas na área de ciência de alimentos e produtos naturais devido à sua simplicidade, reprodutibilidade e relevância biológica. Esse método baseia-se na redução do radical livre estável DPPH•, de coloração púrpura, à forma não radical hidrazina, de coloração amarela, por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio por compostos antioxidantes. Assim, o grau de descoloração da solução reflete diretamente a capacidade sequestradora de radicais livres da amostra avaliada (Barros *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos neste estudo estão em consonância com dados previamente descritos na literatura, que indicam o potencial antioxidante de extratos de sementes de *E. oleracea*, independentemente do solvente de extração ou da metodologia analítica utilizada (Rodrigues *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2020; 2022; Previtalli-Silva *et al.*, 2024). Melo *et al.* (2021), por exemplo, demonstraram a atividade antioxidante *in vitro* de extratos de sementes de açaí frente aos radicais DPPH (622,81 µmol/g) e ABTS (763,09 µmol TEAC/g).

De forma semelhante, Martins *et al.* (2020) relataram que o extrato metanólico de sementes de açaí apresentou EC₅₀ de 16,95 µg/mL no ensaio DPPH, valor de TEAC de 3835,44 µmol Trolox/g de extrato e capacidade antioxidante pelo método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) de 4082,16 µmol Trolox/g. Já Previtalli-Silva *et al.* (2024) observaram desempenho antioxidante ainda mais pronunciado para extratos hidroalcoólicos de sementes de *E. oleracea*, com EC₅₀ de 6,03 ± 0,28 µg/mL no ensaio DPPH, 2553,67 ± 0,01 µmol TE/g pelo ensaio FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e IC₅₀ de 69,84 ± 0,32 µg/mL pelo método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).

As diferenças observadas entre os estudos podem ser atribuídas a fatores como o tipo de solvente utilizado, o perfil químico do extrato, a origem geográfica e o estágio de maturação do fruto, além das condições experimentais empregadas. Ainda assim, os dados convergem ao evidenciar que as sementes de *E. oleracea* constituem uma fonte relevante de compostos antioxidantes, reforçando seu potencial para aplicações funcionais e biotecnológicas.

Diante desse potencial antioxidante, o presente estudo avançou para a avaliação da atividade prebiótica do extrato de sementes de *E. oleracea*, uma vez que compostos fenólicos, além de antioxidantes, podem interagir com a microbiota intestinal e atuar como substratos para bactérias benéficas. Esse metabolismo pode favorecer o

crescimento de microrganismos probióticos e modular processos associados à integridade da barreira intestinal.

De acordo com Wang et al. (2022), antocianinas e outros fenólicos exercem esse efeito ao estimular a produção de ácidos graxos de cadeia curta, intensificar a atividade enzimática microbiana e inibir microrganismos patogênicos. Esses compostos também influenciam vias metabólicas e a expressão gênica bacteriana, reforçando o papel dos fenólicos na promoção da homeostase intestinal e, conseqüentemente, da saúde humana.

Os resultados deste estudo revelaram o potencial do extrato etanólico 70% das sementes do açaí como substrato funcional por estimular o crescimento de *L. paracasei*, corroborando achados previamente descritos para a polpa de açaí (Alqurashi et al., 2017; Veloso Freitas et al., 2021; Loubet Filho et al., 2025). Esse efeito prebiótico pode estar associado, ao menos em parte, ao perfil químico do extrato, rico em antocianinas e outros polifenóis capazes de modular positivamente a microbiota.

L. paracasei, microrganismo utilizado neste estudo, é uma espécie probiótica amplamente empregada nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Reconhecida como segura para consumo (status GRAS – *Generally Recognized As Safe*), essa bactéria está naturalmente presente no trato gastrointestinal de humanos e outros animais. É utilizada como cultura *starter* na produção de laticínios e bebidas fermentadas, como a cerveja, devido à sua capacidade de fermentar diversos carboidratos, produzir ácido lático, tolerar ambientes ácidos e inibir microrganismos patogênicos. Além de atuar na modulação da microbiota intestinal, *L. paracasei* apresenta propriedades imunomodulatórias e benefícios à saúde respiratória. Além disso, participa da biossíntese do ácido γ -aminobutírico (GABA), um metabólito associado ao controle da pressão arterial (Mashudin et al., 2024).

Alqurashi et al. (2017), utilizando um modelo de fermentação em cultura batelada com microbiota fecal humana, demonstraram que a polpa digerida de açaí exerce efeito modulador sobre a microbiota intestinal pelo aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato, bem como pela manutenção da atividade antioxidante nos sobrenadantes da fermentação, capazes de inibir danos ao DNA induzidos por peróxido de hidrogênio em células colônicas HT29, avaliados pelo ensaio Cometa.

Veloso Freitas et al. (2021) demonstraram que bebidas formuladas com suco de açaí mantiveram a viabilidade de *Lacticaseibacillus casei* por até 42 dias sob refrigeração, configurando uma matriz simbiótica promissora. Reges et al. (2024) relataram que um

suco simbiótico de açaí, enriquecido com gluco-oligossacarídeos, dextrana e *Bifidobacterium breve*, promoveu aumento da diversidade microbiana e intensificou a produção de metabólitos de fermentação após incubação com microbiota fecal humana. Recentemente, Loubet Filho *et al.* (2025), em modelo *in vivo*, observaram que a suplementação com polpa de açaí liofilizada também promoveu alterações na microbiota intestinal e na produção de ácidos graxos de cadeia curta, incluindo o aumento relativo de gêneros benéficos como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, embora sem impacto significativo nos distúrbios metabólicos associados à obesidade. Em conjunto, esses achados reforçam o valor biotecnológico do açaí e de seus subprodutos como componentes funcionais voltados à modulação da microbiota intestinal.

Considerando que os efeitos prebióticos ocorrem diretamente no epitélio intestinal, avaliou-se o potencial citotóxico e mutagênico do extrato em células Caco-2 por meio do ensaio do micronúcleo, o qual detecta danos cromossômicos. De forma complementar, aplicou-se o teste de Ames, para investigar a indução de mutações gênicas.

As células Caco-2, derivadas de adenocarcinoma colorretal humano, diferenciam-se em monocamadas com características de enterócitos, incluindo a presença de junções estreitas, microvilosidades, enzimas e transportadores. Por essa razão, constituem um modelo *in vitro* amplamente empregado para o estudo da absorção e dos efeitos de compostos bioativos sobre a mucosa intestinal, fornecendo uma barreira física e funcional à passagem de substâncias (Srinivasan *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos mostraram que o extrato de sementes de *E. oleracea* apresentou baixo potencial citotóxico na linhagem celular avaliada e não induziu efeitos mutagênicos, demonstrando seu perfil de segurança e sustentando seu potencial para aplicações terapêuticas e funcionais.

Silva *et al.* (2014) avaliaram a atividade citotóxica de extratos hidroalcoólicos obtidos a partir das sementes, cascas e frutos de *E. oleracea*. Nenhum desses extratos demonstrou citotoxicidade nas linhagens celulares de adenocarcinoma colorretal Caco-2 e HT-29, nem na linhagem de câncer de mama MDA-MB-468. Contudo, na linhagem MCF-7, todos os extratos testados reduziram significativamente a viabilidade celular, indicando uma possível seletividade frente a determinados tipos celulares.

Martins *et al.* (2020) demonstraram o extrato da semente de açaí também não apresentou citotoxicidade em células epiteliais (LLC-MK2) nem em macrófagos, além de exercer efeito citoprotetor frente ao estresse oxidativo, associado à sua elevada

capacidade antioxidante. Além disso, foi observada atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e *Candida albicans*.

Resultados semelhantes têm sido descritos para produtos derivados e processados do açaí. Silva *et al.* (2025) avaliaram uma bebida obtida a partir de sementes de açaí torradas e observaram baixa citotoxicidade, com viabilidade celular superior a 90%, além de efeito citoprotetor em células Caco-2 após simulação gastrointestinal, indicando a capacidade desses derivados em atenuar processos oxidativos no epitélio intestinal. Recentemente, Cordeiro *et al.* (2026) demonstraram que extratos digeridos de polpas de diferentes espécies do gênero *Euterpe* apresentaram, de modo geral, baixa citotoxicidade em células Caco-2, destacando-se *E. oleracea* por manter maior viabilidade celular mesmo em concentrações mais elevadas, o que sugere um perfil de maior segurança para o epitélio intestinal.

No que se refere à mutagenicidade, Zimmer *et al.* (2025) avaliaram o perfil de segurança genética de um extrato padronizado de sementes de *E. oleracea* (TI-35) e demonstraram a ausência de atividade mutagênica por meio do teste de Ames. Além disso, o extrato não induziu irritação cutânea nem alterações genotóxicas em modelos celulares humanos, corroborando a ausência de efeitos adversos associados à integridade do material genético.

Evidências semelhantes têm sido descritas para outros derivados do fruto. Marques *et al.* (2016) avaliaram o óleo de açaí em modelos *in vivo* e não observaram genotoxicidade em leucócitos, fígado, medula óssea ou células testiculares de roedores, com base nos ensaios cometa e do micronúcleo. Em estudo subsequente, Marques *et al.* (2017) investigaram os efeitos citotóxicos, genotóxicos e antígenotóxicos do óleo de açaí em linfócitos humanos e células hepáticas HepG2, constatando ausência de citotoxicidade e de danos ao DNA em ambas as linhagens, embora não tenham sido observados efeitos quimioprotetores frente aos agentes genotóxicos metanosulfonato e benzo[*a*]pireno.

De forma complementar, Ribeiro *et al.* (2010) relataram ausência de genotoxicidade da polpa de açaí em modelo *in vivo*, bem como efeito antígenotóxico frente aos danos induzidos por doxorrubicina, especialmente em protocolos subagudos, sugerindo um papel protetor associado à presença de fitoquímicos. Corroborando esses achados, Schauss *et al.* (2010) demonstraram que uma bebida enriquecida com polpa de açaí (MonaVie Active®) não apresentou efeitos genotóxicos ou citotóxicos em uma bateria de ensaios pré-clínicos padronizados, incluindo mutação reversa bacteriana,

aberração cromossômica, teste do micronúcleo e ensaios de mutação genética em células de mamíferos.

Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo, em consonância com dados da literatura, indicam que o extrato de sementes de *E. oleracea* apresenta propriedades biológicas relevantes e um perfil de segurança favorável, sustentando sua investigação como fonte de compostos bioativos para aplicações funcionais.

6. CONCLUSÃO

Como conclusão, este estudo demonstra que o extrato de sementes de *E. oleracea* apresenta elevada capacidade antioxidante, potencial prebiótico e um perfil de segurança favorável, caracterizado por baixo potencial citotóxico e ausência de mutagenicidade. Esses achados reforçam o valor biotecnológico das sementes de açaí, um subproduto amplamente descartado pela indústria, como uma fonte promissora de compostos bioativos com aplicações funcionais, nutracêuticas e terapêuticas. Assim, a valorização desse resíduo agroindustrial não apenas contribui para a sustentabilidade ambiental, mas também amplia as possibilidades de desenvolvimento de produtos seguros e inovadores voltados à promoção da saúde humana.

REFERÊNCIAS

Alqurashi R.M.; Alarifi S.N.; Walton G.E.; Costabile A.F.; Rowland I.R.; Commane D.M. In vitro approaches to assess the effects of açai (*Euterpe oleracea*) digestion on polyphenol availability and the subsequent impact on the faecal microbiota. *Food Chem.* 2017; v.234: p.190-198. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.164.

Amorim, D.S.; Amorim, I.S.; Chisté, R.C.; Fernandes, F.A.N.; Meriutti, L.R.B.; Godoy, H.T.; Mendonça, C.R.B. Nonthermal technologies for the conservation of açai pulp and derived products: A comprehensive review. *Food Research International.* 2023; 1: p. 113575. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113575.

Barros L.; Calhelha, R.C.; Queiroz, M.J.R.P.; Santos-Buelga, C.; Santos, E.A.; Regis, W.C.B.; Ferreira, I.C.F.R. The powerful in vitro bioactivity of *Euterpe oleracea* Mart. seeds and related phenolic compounds. *Ind. Crops Prod.* 2015;76:318–322. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.086.

Bernstein, L.; Kaldor, J; McCann, J.; Pike, M.C. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.* 1982; v. 97: p. 267-281. DOI: 10.1016/0165-1161(82)90026-7.

Cordeiro N.K.; Braga G.C.; Alencar S.M.; Saliba A.S.M.C.; Siviero A. Bioaccessibility and cytotoxicity of *Euterpe edulis*, *E. oleracea* and *E. precatoria* fruit compounds. *Acta Amazonica, Food Sciences,* 2026; v.56: e202403582. DOI: 10.1590/1809-4392202403582.

Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2007; v.2: p.1084-104.

Laurindo, L. F.; Barbalho, S.M.; Araújo, A.C.; Guiguer, E.L.; Mondal, A.; Bachtel, G.; Bishayee, A. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) in health and disease: A critical review. *Nutrients.* 2023; v. 15: p. 989. DOI: 10.3390/nu15040989.

Loubet Filho P.S.; Melo J.A.; Baptista R.C.; Lima B.G.T.; Reguengo L.M.; Falk R.B.; Wagner R.; Bogusz Junior S.; Santos E.F.; Cazarin C.B.B.; Maróstica Junior M.R. The effects of açai (*Euterpe oleracea*) intake on gut bacteria and their metabolites in obese mice. *Journal of Functional Foods*. 2025; v.127: p.106748. DOI: 10.1016/j.jff.2025.106748.

Magalhães, T.S.S.A.; Macedo, P.C.O.; Converti, A.; Lima, Á.A.N. The use of *Euterpe oleracea* Mart. as a new perspective for disease treatment and prevention. *Biomolecules*. 2020; v. 10: p. 813. DOI: 10.3390/biom10060813.

Maron, D.M.; Ames, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 1983; v. 113: p. 173-215, 1983. DOI: 10.1016/0165-1161(83)90010-9.

Marques E.S.; Froder J.G.; Carvalho J.C.; Rosa P.C.; Perazzo F.F.; Maistro E.L. Evaluation of the genotoxicity of *Euterpe oleraceae* Mart. (Arecaceae) fruit oil (açai), in mammalian cells in vivo. *Food Chem Toxicol*. 2016; v.93: p.13-9. DOI: 10.1016/j.fct.2016.04.018.

Marques E.S.; Tsuboy M.S.F.; Carvalho J.C.T.; Rosa P.C.P.; Perazzo F.F.; Gaivão I.O.M.; Maistro E.L. First cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic assessment of *Euterpe oleracea* fruit oil (açai) in cultured human cells. *Genet Mol Res*. 2017 Aug 17;16(3). DOI: 10.4238/gmr16039700.

Martinez, R.M.; Guimarães, D.A.B.; Berniz, C.R.; Abreu, J.P.; Rocha, A.P.M.; Moura, R.S.; Resende, A.C.; Teodoro, A.J. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma cells. *Foods*. 2018; v. 7: p. 178. DOI: 10.3390/foods7110178.

Martins G.R.; Amaral F.R.L.; Brum F.L.; Mohana-Borges R.; Moura S.S.T.; Ferreira F.A.; Sangenito L.S.; Santos A.L.S.; Figueiredo N.G.; Silva A.S.A. Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activities of açai seed (*Euterpe oleracea*

Mart.) extracts containing A- and B-type procyanidins. *LWT – Food Sci. Technol.* 2020; v.132: 109830. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.109830.

Martins G.R.; Mattos M.M.G.; Nascimento FM, Brum F.L.; Mohana-Borges R.; Figueiredo N.G. Phenolic Profile and Antioxidant Properties in Extracts of Developing Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Seeds. *J Agric Food Chem.* 2022; 70(51):16218-16228. DOI: 10.1021/acs.jafc.2c07028.

Martins, L. S.; Gomes, M. B. P.; Vilar, V. J. P.; Botelho, C. M. S. Insight on açai seed biomass economy and waste cooking oil: Eco-sorbent castor oil-based. *Journal of Environmental Management.* 2021; v. 293: p. 112803. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112803.

Mashudin M.; Hasham R.; Cheng K.K.; Leong H.Y.; Othman N.Z.; Shadan N.H.; Malik S.A.; Hamzah M.A.A.M. Prebiotic effects of extracts from pineapple and Curcuma xanthorrhiza rhizomes towards the growth of Lacticaseibacillus paracasei. *Food Bioscience.* 2024; v.59: p.104045. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.104045.

Melo, P. S.; Selani, M. M.; Gonçalves, R. H.; Paulino, J. O.; Massarioli, A. P.; Alencar, S. M. Açai seeds: An unexplored agro-industrial residue as a potential source of lipids, fibers, and antioxidant phenolic compounds. *Industrial Crops and Products.* 2021; v. 161: p. 113204, 2021. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.113204

Monteiro, E.B.; Borges, N.A.; Monteiro, M.; Resende, Â.C.; Daleprane, J.B.; Soulage, C.O. Polyphenol-rich açai seed extract exhibits reno-protective and anti-fibrotic activities in renal tubular cells and mice with kidney failure. *Scientific Reports.* 2022; v. 12: p. 20855. DOI: 10.1038/s41598-022-24420-1.

Morais, R.A.; Teixeira, G.L.; Ferreira, S.R.S.; Cifuentes, A.; Block, J.M. Nutritional composition and bioactive compounds of native Brazilian fruits of the Areaceae family and its potential applications for health promotion. *Nutrients.* 2022; v. 14: p. 4009. DOI: 10.3390/nu14194009.

Mortelmans, K.; Zeiger, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 200; v. 455: p. 29-60. DOI: 10.1016/S0027-5107(00)00064-6.

Page, B.; Page, M.; Noel, C. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements in-vitro. *International Journal of Oncology*. 1993; v. 3: p. 473-476. DOI: 10.3892/ijo.3.3.473.

Pessôa, T.S.; Ferreira, L.E.L.; Silva, M.P.; Neto, L.M.P.; Nascimento, B.F.; Fraga, T.J.M.; Jaguaribe, E.F.; Cavalcanti, J.V.; Sobrinho, M.A.M. Açai waste benefiting by gasification process and its employment in the treatment of synthetic and raw textile wastewater. *Journal of Cleaner Production*. 2019; v. 240, p. 118047. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.118047.

Previtali-Silva H, HarDOIIm D.J.; Banaggia R.L.; Moragas-Tellis C.J.; Chagas M.D.S.D.S.; Behrens M.D.; Dias-Silva T.S.; Calabrese K.D.S.; Cardoso F.O. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açai) seed bioproducts. *Heliyon*. 2024; v.10: p.e40510. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e40510.

Rampersad, S. N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*. 2012; v. 12: p. 12347-12360. DOI: 10.3390/s120912347.

Reges B.M.; Oliveira F.A.S.; Fonteles T.V.; Rodrigues S. Changes in human colonic microbiota promoted by synbiotic açai juice composed of gluco-oligosaccharides, dextran, and *Bifidobacterium breve* NRRL B-41408. *Foods*. 2024; v.13(24): p.4121. DOI: 10.3390/foods13244121.

Ribeiro J.C.; Antunes L.M.; Aissa A.F.; Darin J.D.; De Rosso V.V.; Mercadante A.Z.; Bianchi Mde L. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. *Mutat Res*. 2010; v.695: p.22-8. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2009.10.009.

Rodrigues, R. B.; Machado, R. M. D.; Barbosa, V. C.; Yamaguchi, K. K. L.; Jorge, N. Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) seeds and identification of their polyphenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006; v. 54: p. 4162-4167. DOI: 10.1021/jf058169p.

Rufino M.S.M., Alves R.E., de Brito E.S., Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F., Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem.* 2010;121(4):996–1002. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.037.

Sato, M.K.; Lima, H.V.; Costa, A.N.; Rodrigues, S.; Mooney, S.J.; Clarke, M.; Pedroso, A.J.S.; Maia, C.M.B.F. Biochar as a sustainable alternative to açai waste disposal in Amazon, Brazil. *Process Safety and Environmental Protection*. 2020; v. 139: p. 36-46. DOI: 10.1016/j.psep.2020.04.001.

Schauss, A. G.; Clewell, A.; Ballard, C.; Vukovich, M. D.; Ogden, A. C.; Day, M. L.; Rader, J. I.; Ulrich, R. S.; West, B. J.; Howard, M. D. Safety evaluation of an açai-fortified fruit and berry functional juice beverage (MonaVie Active®). *Toxicology*. 2010; v. 278: p. 46-54. DOI: 10.1016/j.tox.2010.04.017.

Silva D.F.; Vidal F.C.; Santos D.; Costa M.C.; Morgado-Díaz J.A.; do Desterro S. B. N. M.; de Moura R.S. Cytotoxic effects of *Euterpe oleracea* Mart. in malignant cell lines. *BMC Complement Altern Med*. 2014; v.14: p.175. DOI: 10.1186/1472-6882-14-175.

Silva, I.O.; Crespo-Lopez, M.E.; Augusto-Oliveira, M.; Arrifano, G.P.; Ramos-Nunes, N.R.; Gomes, E.B.; Silva, F.R.P.; Sousa, A.A.; Leal, A.L.A.; Damasceno, H.C.; Oliveira, A.C.A.; Sousa-Monteiro, J.R. What We Know about *Euterpe* Genus and Neuroprotection: A Scoping Review. *Nutrients*. 2023(a); v. 15: p. 3189. DOI: 10.3390/nu15143189.

Silva L.R.; Feitosa L.H.F.; Bezerra e Silva M.; Silva G.S.; Souza E.; Marques A.D.J.F.; Sacilotto E.S.; Arcanjo N.M.O.; Lima M.S.; Pacheco M.T.; Galland F.; Madruga M.S.; Cordeiro A.R.R.A.; Bezerra T.K.A. Upcycled beverage from roasted açai (*Euterpe oleracea*) seeds: antioxidant capacity and cytoprotection through gastrointestinal

simulation. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2025; v.69(23): p.e70270. DOI: 10.1002/mnfr.70270.

Silva, M.A.C.N.; Tessmann, J.W.; Borges, K.R.A.; Wolff, L.A.S.; Botelho, F.D.; Vieira, L.A.; Morgado-Diaz, J.A.; Franca, T.C.C.; Barbosa, M.C.L.; Nascimento, M.D.S.B.; Rocha, M.R.; Carvalho, J.E. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seed oil exerts a cytotoxic role over colorectal cancer cells: insights of annexin A2 regulation and molecular modeling. *Metabolites*. 2023(b); v. 13: p. 789. DOI: 10.3390/metabo13070789.

Silveira, J.T.; Rosa, A.P.C.; Morais, M.G.; Victoria, F.N.; Costa, J.A.V. An integrative review of Açai (*Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*): Traditional uses, phytochemical composition, market trends, and emerging applications. *Food Research International*. 2023, v.10: p. 113304. DOI: 10.1016/j.foodres.2023.113304.

Souza, F.G.; Araújo, F.F.; Farias, D.P.; Zanotto, A.W.; Neri-Numa, I.A.; Pastore, G.M. Brazilian fruits of *Arecaceae* family: An overview of some representatives with promising food, therapeutic and industrial applications. *Food Research International*. 2020; v. 138: p. 109690. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109690.

Srinivasan B.; Kolli A.R.; Esch M.B.; Abaci H.E.; Shuler M.L.; Hickman J.J. TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. *J. Lab. Autom.* 2015; v.20: p.107–126. DOI: 10.1177/2211068214561025.

Tran, N.; Pham, B.; Le, L. Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery. *Biology*. 2020; v. 9: p. 252. DOI: 10.3390/biology9090252.

Uma, K.; Huang, X.; Kumar, B. A. Antifungal effect of plant extract and essential oil. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2017; v. 23: p. 233-239. DOI: 10.1007/s11655-016-2524-z.

Veiga, M.; Costa, E.M.; Silva, S.; Pintado, M. Impact of plant extracts upon human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020; v. 60: p. 873-886. DOI: 10.1080/10408398.2018.1540969.

Wang, M., Zhang, Z., Sun, H., He, S., Liu, S., Zhang, T., Wang, L., & Ma, G. (2022). Research progress of anthocyanin prebiotic activity: A review. *Phytomedicine*, 102, 154145. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154145>

WHO. World Health Organization. Traditional medicine strategy: 2014-2023. World Health Organization, ISBN: 9789241506090, 2013.

Zimmer C.G.M.; Heller M.; Santos E.C.D.S.; Freitas C.S.; Benedet P.O.; Siqueira J.M.; Marcon R.; Calixto J.B. The potential use of the standardized *Euterpe oleracea* (açai) seed extract in cosmetic products. *Int J Cosmet Sci.* 2025; v.10: p.110. DOI: 10.1111/ics.13053.