

Health enhancing traditional foods in Brazil: an interdisciplinary approach to food and nutritional security



**Thesis presented in fulfillment of requirement for the degree of Doctor of
Philosophy in Natural Sciences (*Dr. rer. nat.*)**

Faculty of Natural Sciences

University of Hohenheim

Institute for Biological Chemistry and Nutrition
Chair of Nutritional Biochemistry
Prof. *Dr. rer. nat.* Lutz Graeve

Presented by

Fernanda Dias Bartolomeu Abadio Finco

From Rio de Janeiro, Brazil.

2012

The present work has in part been published or presented as follows:

Accepted full papers:

1. Abadio Finco, F.D.B.; Böser, S.; Graeve, L. Antiproliferative activity of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) and jenipapo (*Genipa americana* L.) phenolic extracts: a comparison of assays. *Nutrition & Food Science*, v. 43 n.2
2. Abadio Finco, F.D.B.; Kammerer, D. R.; Carle, R.; Tseng, W-H.; Böser, S.; Graeve, L. Antioxidant activity and characterization of phenolic compounds from bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) fruit by HPLC-DAD-MSⁿ. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2012, 60 (31), pp 7665-7673. DOI: 10.1021/jf3007689

Submitted full papers:

3. Abadio Finco, F.D.B.; Tseng, W-H.; Böser, S.; Kammerer, D. R.; Carle, R.; Graeve, L. Determination of phenolic contents and antioxidant capacity of extracts from *Genipa americana* L. ("Jenipapo") fruit.

Invited talks:

4. Abadio Finco, F.D.B. Health Enhancing Local Foods: an interdisciplinary approach to Gender and Nutritional Security. Summer 2009 Speaker series: New Perspectives in Food and Gender. Kompetenzzentrum Gender und Ernährung, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, July, 1st 2009.
5. Abadio Finco, F.D.B. Chemopreventive effect of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) on MCF-7 cells. 9th SLACA Simpósio Latino Americano de Ciência e Tecnologia de Alimentos (Latin American Symposium of Food Science and Technology) November 5th to 8th, 2011 Campinas, Brazil).

Poster presentations:

6. Abadio Finco, F.D.B. Chemopreventive effect of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) on MCF-7 cells. 9th SLACA Simpósio Latino Americano de Ciência e Tecnologia de Alimentos (Latin American Symposium of Food Science and Technology) November 5th to 8th, 2011 Campinas, Brazil).
7. Kloss, L. Abadio Finco, F.D.B.; Graeve, L. The apoptotic effect of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) phenolic extract on MCF-7 breast cancer cells. Scientific Student Conference 2010, Wageningen University, The Netherlands, 20-21 October, 2011.
8. Volkert, A. Abadio Finco, F.D.B.; Graeve, L. The effect of bacaba phenolic extract (*Oenocarpus bacaba*) on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes into adipocytes. Scientific Student Conference 2010, Wageningen University, The Netherlands, 20-21 October, 2011.
9. Böser, S.; Abadio Finco, F.D.B.; Graeve, L. Antioxidant and Antiproliferative Effects of Phenolic Extracts from Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) and Jenipapo (*Genipa americana*) on HepG2 Cancer Cell Line. ELLS Scientific Student Conference 2010, November, 11-12, Copenhagen, Denmark.
10. Abadio Finco, F.D.B.; Graeve, L. Apoptotic effect of the Brazilian berry Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Martius) on MCF-7 breast cancer cells. SFRR Europe: Society for Free Radical Research Meeting. September 12 - 15, 2010, Oslo, Norway.
11. Abadio Finco, F.D.B.; Graeve, L. Apoptotic effect of the Brazilian berry Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Martius) on MCF-7 breast cancer cells. Metabolomics 2010 27th June to 1st July Amsterdam, The Netherlands

5. Summary

The Brazilian nutritional profile is currently characterized by the so-called "nutrition transition process" i.e. the population presents nutritional status characteristics of both developing and developed countries. Therefore, malnutrition is present not only in the form of undernutrition but increasingly also presents as overweight and obesity. Some studies suggest that this is not only a particular problem of urban societies but also of rural communities.

Recently, Brazil has impressively advanced on issues which address nutrition, agriculture and health within a sustainable framework. One of the recent initiatives encompasses the Brazilian Food and Nutrition Security Policy, which could be considered as the vanguard of this theme by covering different dimensions of nutritional issues, as defined hereunder: "Food and Nutrition Security is the achievement of the right of all people to access food regularly and permanently, with quality and enough quantity, without compromising the access to other basic needs, based on food practices to promote health, with respect to cultural differences and being social, economic and environmentally sustainable".

Since the Brazilian Food and Nutritional Policy is characterized by a broad view on food and nutrition, different components related to food and nutrition have to be considered. Therefore, the health side of the food, in a pluralistic vision has to be taken into account. Thus, food and their consumers are unavoidably connected.

Beyond classical nutrients, much attention has recently been focused on bioactive compounds and their preventive role on non-communicable diseases such as diabetes, cardiovascular diseases and cancer. Therefore researchers are increasingly interested to unfold the preventive biochemical processes of these compounds.

Hence, the current research aimed to investigate health enhancing properties of traditional Brazilian fruits within the Food and Nutrition Security definition of the country. Given the interdisciplinary feature of the topic Food and Nutrition Security, the work was performed in two stages. The first one encompasses a nutritional survey with two rural communities in APA – Cantão, Tocantins State, Brazil and the second part comprises experimental laboratory research.

The outcome from the nutrition survey showed a high level of food insecurity among the families (84.2%). The nutritional profile of the study population expressed a high prevalence of overweight for the adults (53.7%). Regression analysis showed that the high Body Mass Index (BMI) is influenced by the consumption of an imbalanced diet and the physical activity level. Furthermore, women had a higher prevalence of overweight and obesity in comparison to men. Another observation is that rural communities have a monotonous diet with very low consumption of fruits and vegetables. Besides the negative effect on their body composition, this last result points to the risk of developing micronutrient deficiencies, i.e. hidden hunger. Based on the outcome and the demand presented by the participants in the nutrition survey, two fruits available in the region were chosen to investigate their possible biofunctional properties.

Different assays were performed with Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) and Jenipapo (*Genipa americana* L.) phenolic extracts. Extracts from both fruits showed antioxidant and antiproliferative capacities. Since bacaba displayed higher activities than Jenipapo, this fruit was chosen for a more detailed investigation of the biochemical mechanisms involved. The results showed that bacaba phenolic extracts induced apoptosis in MCF-7 breast cancer cells through the mitochondrial pathway. Caspase-6, -8 and -9 were activated when compared to the untreated control in a dose dependent manner ($p < .05$). However, caspase-9 showed the highest activation. Since MCF-7 cells do not express caspase-3 and based on additional investigations on PARP (Poly (ADP-ribose) polymerase) - cleavage, the experiments suggest that caspase-9 plays an important role in the observed apoptotic effect. The laboratory

work thus emphasizes the potential healthy properties of traditional fruits from the Brazilian biodiversity with high antioxidant activities.

Altogether, the results indicate the need of a better nutritional education with the involved communities in order to promote healthy eating practices and to increase the consumption of fruit and vegetables. Based on this, it is suggested for government and policy makers to take action in rural communities.

Indeed, it is undeniable that the biodiversity available in Brazil is a huge treasure and source of novel “superfruits”. Therefore, the current work reinforces the development of research in this area in order of identify health enhancing neglected traditional fruits and to promote their consumption, add value and generate income to small farmers and traditional communities with not only the improvement of their economic power, but also of their diets and health respecting their tradition and culture. Not to mention the contribution to biodiversity preservation since plants that were merely discarded could now have a multifactor value in line with the Brazilian Food and Nutritional Security policy.

6. Zusammenfassung

Derzeit ist das brasilianische Ernährungsprofil vom so genannten „nutrition transition process“ geprägt, das heißt, die Landbevölkerung weist Ernährungscharakteristika von Industrie- und Entwicklungsländern auf. Deshalb ist Fehlernährung in Brasilien nicht nur als Unterernährung vorzufinden, sondern auch in Form von Übergewicht und Adipositas. Manche Studien belegen, dass dies nicht nur ein Problem in Städten sondern auch inländlichen Gebieten ist.

In letzter Zeit hat sich Brasilien in eindrucksvoller Weise auf verschiedenen Gebieten wie z.B. Ernährung, Landwirtschaft und Gesundheit weiterentwickelt und diese in ein Nachhaltigkeitskonzept integriert. Eine der neuesten Initiativen ist die brasilianische Nahrungs- und Ernährungssicherheitsstrategie. Die Grundidee der Initiative ist Vorreiter in diesem Themengebiet, indem sie verschiedene Dimensionen von Ernährungsfragen verbindet und sind wie folgt definiert: „Die Nahrungs- und Ernährungssicherheit ist das Erreichen des Rechts aller Menschen, regelmäßigen und permanenten Zugang zu qualitativ hochwertiger Nahrung in ausreichender Menge zu haben, ohne Gefährdung anderer grundlegender menschlicher Bedürfnisse, basierend auf Ernährungsweisen, die unter Einbeziehung kultureller Hintergründe und unter Berücksichtigung sozialer, ökonomischer und ökologischer Faktoren die Gesundheit fördern“.

Die brasilianische Nahrungs- und Ernährungsinitiative beinhaltet eine holistische Betrachtung von Lebensmittel und Ernährung. Aus diesem Grund müssen verschiedene Aspekte, die mit Lebensmitteln und Ernährung zu tun haben, ganzheitlich gesehen werden. Daraus folgt, dass Nahrung und ihre Konsumenten unvermeidbar miteinander verbunden sind.

In der Wissenschaft wird derzeit bioaktiven Substanzen und ihrer präventiven Rolle bei nicht übertragbaren Krankheiten, wie z.B. Diabetes, Herz-Kreislaufkrankungen und Krebserkrankungen, viel Aufmerksamkeit geschenkt. Deshalb steigt das

Interesse der Wissenschaftler, diesen Vorgang auf biochemischer Ebene zu entschlüsseln.

Aus diesem Grund war es Ziel der vorliegenden Arbeit, die gesundheitsfördernden Eigenschaften von traditionellen brasilianischen Früchten auf Basis der Nahrungs- und Ernährungssicherheitsinitiative Brasiliens zu untersuchen. Da dieses Konzept interdisziplinäre Aspekte aufweist, wurde die Studie in zwei Abschnitten durchgeführt. Im ersten Teil wurde in zwei ländlichen Gebieten des APA-Cantão, Tocantins State, Brasilien, eine Ernährungserhebung durchgeführt. Der zweite Teil beinhaltet die Untersuchung von traditionellen brasilianischen Früchten im Labor.

Die Fragebögen zur Ernährungssituation zeigten, dass bei den 84,2% der Familien eine große Ernährungsunsicherheit herrscht. Der Ernährungsstatus der befragten Bevölkerungsgruppe weist darauf hin, dass es eine sehr hohe Prävalenz (53,7%) von Übergewicht bei den Erwachsenen existiert. Des Weiteren bestätigte die Regressionsanalyse, dass ein hoher Body Mass Index (BMI) von Faktoren wie z.B. einer unausgewogenen Ernährung und dem Grad der körperlichen Aktivität beeinflusst wird. Darüber hinaus zeigten die Frauen im Vergleich zu den Männern eine höhere Prävalenz für Übergewicht und Adipositas. Zusätzlich wurde beobachtet, dass im ländlichen Gebiet die Bevölkerung eine recht einseitige Ernährungsweise aufweist und Früchte sowie auch Gemüse sehr wenig konsumiert werden. Neben den Einflüssen auf den Körperbau zeigt dieses Ergebnis eine hohe Gefahr des Risikos für Mikronährstoffmangel (versteckter Hunger), auf. Auf Grundlage der Ergebnisse und Wunsch der Teilnehmer der Studie wurden zwei Früchte aus der Region ausgewählt, um sie auf potentiell biofunktionelle Eigenschaften hin zu untersuchen.

Verschiedene biochemische Assays wurden mit phenolischen Extrakten aus Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) und Jenipapo (*Genipa americana* L.) durchgeführt. Beide Fruchtextrikte zeigten sehr hohe antioxidative und antiproliferative Eigenschaften. Da Bacaba eine höhere Aktivität aufwies als Jenipapo, wurde es für die weiteren

Experimente ausgewählt. Die antioxidative Aktivität vom Bacaba-Extrakt wurde an der MCF-7 Brustkrebs-Zelllinie untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass der phenolischen Extrakt aus Bacaba eine pro-apoptotische Wirkung aufwies, die durch eine Aktivierung des mitochondrialen Signalweges zu erklären ist. Im Gegensatz zur Kontrollprobe hatte Bacaba eine dosis-abhängige Wirkung auf die Aktivierung von den Caspasen -6, -8, und -9. Caspase-9 zeigte dabei die höchste Aktivierung. Die Tatsache, dass MCF-7 Zellen nicht Caspase-3 exprimieren und die Ergebnisse weiterer Untersuchungen an der PARP (poly(ADP-ribose)-Polymerase) -Spaltung deuten darauf hin, dass Caspase-9 eine wichtige Rolle bei der Apoptose spielt. Insgesamt unterstreichen die Laborergebnisse die potentiellen gesundheitsfördernden Eigenschaften und hohen antioxidativen Wirkungen der traditionellen Früchte aus Brasilien.

Zusammenfassend deuten die Ergebnisse darauf hin, dass es wichtig ist, den beteiligten Dörfern Ernährungsbildung anzubieten, um gesunde Ernährungsweisen und einen höheren Konsum von Früchten und Gemüse zu fördern. Darauf basierend sollten die Regierung und die Gesetzgeber neue Initiativen zur Förderung einer gesunden Ernährung in den ländlichen Gebieten initiieren.

Es ist unbestreitbar, dass die verfügbare Artenvielfalt eine der größte Schätze Brasiliens ist und eine Quelle vieler neuer „Superfrüchte“. In dieser Arbeit wurde gezeigt, wie wichtig es ist, die Forschung in diesem Bereich mit dem Ziel zu intensivieren, um vernachlässigte Früchte mit gesundheitsfördernden Eigenschaften zu identifizieren und ihren Verzehr zu fördern. Dies würde neben der Möglichkeit für Kleinbauern und traditionelle Gemeinschaften, zusätzliches Einkommen zu erzielen, auch unter Berücksichtigung der Tradition und Kultur die Ernährungsweise und Gesundheit fördern. Doch nicht nur der wirtschaftliche Vorteil, sondern auch der Erhalt der biologischen Vielfalt im brasilianischen Regenwald wäre gewährleistet, womit diese Früchte, gemäß der neuen brasilianischen Nahrungs- und Ernährungssicherheitsinitiative, einen multifaktoriellen Wert für die Menschen dieser Gebiete aufweisen würden.

7. Resumo

O perfil nutricional brasileiro atualmente é caracterizado pelo processo conhecido com transição nutricional, isto é, a população apresenta simultaneamente estado nutricional característico de países desenvolvidos e em desenvolvimento. Por tal motivo, a má nutrição está presente não somente na forma de desnutrição, mas também de sobrepeso e obesidade. Alguns estudos sugerem que este quadro pode não ser apenas um problema particular de sociedades urbanas mas também de comunidades rurais.

Recentemente, o Brasil tem avançado expressivamente nos assuntos relacionados às questões nutricionais, agrícolas e de saúde, dentro do contexto da sustentabilidade. Uma das iniciativas recentes abrange a Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, a qual pode ser considerada na vanguarda deste tema por abranger as diferentes dimensões da nutrição, como descrito a seguir: “A segurança alimentar e nutricional consiste na realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentáveis.”

Em virtude na Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional possuir uma visão abrangente da alimentação e nutrição, diferentes componentes envolvidos com este tema devem ser considerados. Desta forma, o aspecto de saúde deve ser visto dentro de um contexto pluralístico. Estando o alimento e seus consumidores inevitavelmente conectados. Além dos nutrientes clássicos, compostos bioativos, tais como substâncias fenólicas, têm chamado a atenção por seu papel na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, tais como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer. Assim, pesquisadores estão progressivamente interessados em desdobrar os processos bioquímicos envolvidos no poder preventivo destas substâncias.

Assim, a presente pesquisa tem como objetivo investigar propriedades de saúde em frutas tradicionais brasileiras com base no conceito de segurança alimentar e nutricional. Em virtude da característica interdisciplinar inerente à temática segurança alimentar e nutricional, o trabalho foi desenvolvido em duas etapas e considerou as diferentes dimensões da nutrição. A primeira etapa incluiu um inquérito nutricional com duas comunidades rurais na APA – Cantão, Tocantins; e a segunda etapa compreendeu um pesquisa experimental em laboratório.

Os resultados do inquérito nutricional demonstram elevado nível de insegurança alimentar entre as famílias (84.2%). O perfil nutricional da população estudada expressa a elevada prevalência de sobrepeso e obesidade (53.7%) em adultos. A análise de regressão demonstrou que o Índice de Massa Corporal (IMC) é influenciado pelo consumo de uma dieta desbalanceada e pelo nível de atividade física. Aqueles que desenvolvem elevado nível de atividade física tiveram menores valores de IMC. Ademais, é importante ressaltar que as mulheres tiveram elevada prevalência de sobrepeso e obesidade em comparação aos homens. Outra observação diz respeito à ingestão dietética das comunidades rurais que demonstra uma dieta monótona com baixo consumo de frutas e verduras. Adicionalmente ao estado nutricional encontrado, este último resultado chama a atenção para a exposição ao risco de carências de micronutrientes (ex. fome oculta). Com base nos resultados da presente pesquisa e na demanda apresentada pelos participantes do inquérito nutricional, duas frutas disponíveis na região e sugeridas pelos participantes foram escolhidas para trabalho experimental em laboratório com objetivo de investigar suas possíveis propriedades funcionais.

Diferentes ensaios químicos e bioquímicos foram realizados com extrato fenólico de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) e jenipapo (*Genipa americana* L.). Ambos extratos tiveram expressiva atividade antioxidante e antiproliferativa de maneira dose-dependente. Entretanto, como a bacaba demonstrou maior potencial antioxidante e antiproliferativo que o jenipapo, esta fruta foi escolhida para investigação mais detalhada no que tange os processos bioquímicos envolvidos na

atividade antiproliferativa do extrato de bacaba na linha celular de câncer de mama MCF-7. Os resultados demonstram que o extrato fenólico de bacaba induziu apoptose por meio da via mitocondrial com ativação de caspases. Caspase-6, -8 e -9 foram significativamente ativadas em comparação ao controle não estimulado de forma dose-dependente ($p < .05$). Entretanto, caspase-9 teve o maior nível de ativação. Em virtude da linha de célula MCF-7 não expressar caspase-3 e com base em investigação adicional quanto à clivagem da proteína PARP (polimerase poli (do ADP-ribose)) , os experimentos sugerem que caspase-9 possui importante papel no efeito apoptótico observado. A pesquisa laboratorial aqui relatada enfatiza o potencial de saúde de frutas tradicionais da biodiversidade brasileira com elevados níveis de atividade antioxidante.

De forma geral, os resultados apontam a necessidade de atividades de educação nutricional com as comunidades envolvidas de forma a promover práticas alimentares saudáveis e aumentar o consumo de frutas e verduras. Com base nos dados obtidos, sugere-se às instituições governamentais e elaboradores e executores de políticas públicas que ações sejam desenvolvidas com atenção às comunidades rurais.

Ainda, é inegável que a biodiversidade disponível no Brasil é um grande tesouro e fonte de novas “superfrutas”. Por tal motivo, este trabalho reforça o desenvolvimento de pesquisa nesta área de forma a realçar as propriedades de saúde de frutas negligenciadas, promover o consumo, agregar valor e gerar renda à pequenos agricultores e comunidades tradicionais, não somente para aprimorar seu poder econômico, mas também suas dietas e saúde, respeitando a tradição e a cultura local. Cabe ainda mencionar a contribuição para a preservação da biodiversidade, já que à espécies que seriam meramente descartadas pode ser atribuído um valor plural (social, econômico, de saúde, nutricional etc.) em consonância com a Política Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional brasileira.