



VERÔNICA PAVAN

**EFEITO DA DIGESTÃO GASTRINTESTINAL E FERMENTAÇÃO COLÔNICA *IN VITRO* NA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E NO PERFIL DE CARBOIDRATOS DAS FRUTAS JACA E
ARATICUM (*ARTOCARPUS HETEROPHILLUS* E *ANNONA MARCGRAVII*)**

CAMPINAS

2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

VERÔNICA PAVAN

**EFEITO DA DIGESTÃO GASTRINTESTINAL E FERMENTAÇÃO COLÔNICA *IN VITRO* NA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E NO PERFIL DE CARBOIDRATOS DAS FRUTAS JACA E
ARATICUM (*ARTOCARPUS HETEROPHILLUS* E *ANNONA MARCGRAVII*)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do Título de Mestra em Ciência de Alimentos.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Gláucia Maria Pastore
Co-orientador (a): Prof^a Dr^a Luciana Gomes Malta

Este exemplar corresponde à versão final
dissertação defendida pela aluna
Verônica Pavan e orientada pela Prof^a
Dr^a Gláucia Maria Pastore.

Assinatura do orientador

CAMPINAS

2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

P288e Pavan, Verônica, 1990-
Efeito da digestão gastrointestinal e fermentação colônica *in vitro* na atividade antioxidante e no perfil de carboidratos das frutas jaca e araticum (*Artocarpus heterophyllus* e *Annona marcgravii*) / Verônica Pavan. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Gláucia Maria Pastore.
Coorientador: Luciana Gomes Malta.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Compostos fenólicos. 2. Digestão. 3. Frutas exóticas. 4. Carboidratos. 5. Flavonoides. I. Pastore, Gláucia Maria. II. Malta, Luciana Gomes. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Effect of the gastrointestinal digestion and *in vitro* colonic fermentation on the antioxidant activity and profile of the carbohydrates in the fruits jackfruit and araticum (*Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*)

Palavras-chave em inglês:

Phenolic compounds

Digestion

Exotic fruits

Carbohydrates

Flavonoids

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Gláucia Maria Pastore [Orientador]

Juliano Lemos Bicas

Marlene Maria Amaral Scheid

Data de defesa: 23-02-2015

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Gláucia Maria Pastore (Orientadora)
Universidade Estadual de Campinas (FEA)

Profª Drº Juliano Lemos Bicas (Titular)
Universidade Estadual de Campinas (FEA)

Profª Drª Marlene Maria Amaral Scheid (Titular)
Universidade do Vale do Paraíba

Profª Drª Ana Elizabeth C. Fai. B. Gusmão (Suplente)
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Profª Drº Mário Roberto Maróstica Junior (Suplente)
Universidade Estadual de Campinas (FEA)

RESUMO

Compostos com atividade antioxidante provenientes de frutas que estão envolvidos na prevenção de várias doenças degenerativas foram investigados em diversos estudos. Para melhorar o conhecimento do processo de absorção desses compostos com atividade antioxidante (AA), este estudo avaliou a AA de extratos de *Artocarpus heterophyllus* (jaca) e *Annona marcgravii* (araticum) brutos, digerido gástrico, digerido intestinal e fermentação colônica, *in vitro*. Os compostos fenólicos foram avaliados a partir da quantificação de fenóis totais (FT), flavonoides totais (FLT), seguida da AA, medida por métodos como *Trolox equivalent antioxidant capacity* (TEAC) e *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC). Um importante fator que tem chamado atenção desta classe de compostos são os fenólicos que estão ligados a diferentes moléculas, como carboidratos, aminoácidos, dentre outros, que pelo seu peso molecular, tipo de ligação podem ser absorvidos ou mesmo metabolizados em diferentes regiões no sistema gastrointestinal. No extrato de araticum foi observada uma redução em FT após a digestão gástrica e subsequente aumento após a digestão intestinal, seguida de redução após a fermentação. Redução e aumento em FLT foram observados no extrato de jaca. A AA apresentou diferentes resultados para os métodos utilizados. Observou-se um aumento em TEAC para o extrato de jaca após o processo de digestão intestinal, diferente do extrato de araticum que apresentou aumento após a digestão gástrica e redução após a fermentação. Na avaliação pelo método ORAC observou-se um aumento do potencial no extrato de jaca após sofrer o processo de fermentação colônica. O extrato de araticum apresentou diferente comportamento quando comparado ao extrato de jaca, mostrando queda sucessiva na AA quando digerido e também após ser fermentado. Os carboidratos apresentaram um perfil interessante, no qual desvia do padrão estabelecido pela literatura mostrando uma redução após a digestão gástrica.

PALAVRAS CHAVE: Fenólicos, flavonoides, digestão gastrointestinal, frutas exóticas, carboidratos, ORAC.

ABSTRACT

Compounds with antioxidant activity from fruits that are involved in the prevention of several degenerative diseases were investigated in several studies. To improve the knowledge of the process of absorption of these compounds with antioxidant activity (AA), this study evaluated the crude extracts of the *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit) and *Annona marcgravii* (araticum), gastric and intestinal digested and colonic fermentation *in vitro*. Phenolic compounds were evaluated from the quantification of total phenols (FT), total flavonoids (FLT), followed by AA, measured by method such as Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and Oxygen radical absorbance capacity (ORAC). An important factor which has been highlighted to this class of phenolic compounds are the phenolics which are attached to various molecules such as carbohydrates, amino acids, among others, that at molecular weight, type of linkage can be absorbed or metabolized in different regions of the gastrointestinal system. In the araticum extract was observed a decrease in FT after gastric digestion and afterwards an increase after intestinal digestion, followed by reduction after the fermentation. Reduction and increase in FLT were observed in jackfruit extract. The AA showed different results for the method used. There was an increase in TEAC for jackfruit extract after the process of intestinal digestion, unlike araticum extract which increased after gastric digestion and reduction after the fermentation. In assessing the ORAC method there was an increased in the potential of the jackfruit extract after suffering the colonic fermentation process. The araticum extract showed different behavior compared to jackfruit extract, showing successive reduction in AA when it was digested and also after being fermented. Carbohydrates showed an interesting profile, which deviates from the standard established in the literature showing a reduction after gastric digestion.

KEYWORDS: Phenolic, flavonoids, gastrointestinal digestion, exotic fruits, carbohydrates, ORAC.

Conteúdo

1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1.1.	ALIMENTOS FUNCIONAIS	3
1.2.	COMPOSTOS BIOATIVOS	4
1.2.1.	COMPOSTOS FENÓLICOS	6
1.3.	CARBOIDRATOS	12
1.3.1.	OLIGOSSACARÍDEOS	13
1.4.	BIODISPONIBILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS	15
1.4.1.	BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS	15
1.4.2.	BIODISPONIBILIDADE DE CARBOIDRATOS	18
1.4.3.	EFEITO PREBIÓTICO	19
1.5.	FRUTAS	22
1.5.1.	JACA	22
1.5.2.	ARATICUM	25
2.	OBJETIVOS GERAIS	29
2.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3.	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1.	COLETA DAS AMOSTRAS	30
3.2.	PREPARO DOS EXTRATOS	30
3.3.	DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS (FT)	30
3.4.	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLT)	31
3.5.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)	31
3.5.1.	TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY (TEAC)	31
3.5.2.	OXYGEN RADICAL ABSORBANCE CAPACITY (ORAC)	32
3.6.	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS	33
3.7.	DIGESTÃO GASTRINTESTINAL IN VITRO	34
3.8.	FERMENTAÇÃO COLÔNICA IN VITRO	35
4.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1.	FENÓIS TOTAIS	39
5.2.	FLAVONOIDES	42
5.3.	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	46

5.4.	CARBOIDRATOS	52
6.	CONCLUSÕES	62
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

À minha mãe e meu pai, Clara e Marcos, dedico este singelo trabalho. Jamais diria com o mesmo amor que sempre dedicaram a mim, pois o amor que surge e sinto de vocês é incomparável.

Ao meu querido namorado, Anderson, que com muito amor e carinho me motivou tantas vezes. Dedico e agradeço.



"Follow the spiders, why can't it be follow the butterflies?"

Ron Weasley

AGRADECIMENTOS

As dificuldades que encontrei ao longo do caminho ainda me fazem crescer e acredito que Deus seja o responsável por essa conquista. Para o mundo acadêmico o título de mestre é um simples título. No entanto, para mim é uma das maiores conquistas da minha vida. E para isso, preciso agradecer muitas pessoas, o que tenho absoluta certeza da difícil tarefa de descrever a minha gratidão.

Primeiramente agradeço a Deus por me conceder a vida, sem Ele eu não teria sido capaz. Agradeço também, aos meus pais, que por tantas vezes os fiz aturar meu mau humor, e os magoei em tantos momentos em que seguraram a "barra". E se hoje sou mestre a vitória é tanto deles quanto minha.

Não posso me esquecer dos meus irmãos, Gabriel e Elias, que também foram enrolados tantas vezes nas minhas idas e vindas. Agradeço a compreensão e o esforço que fizeram por mim durante esta trajetória.

Anderson: agradeço simplesmente pelo fato de ter surgido em minha vida. Seu apoio, cumplicidade, compreensão, amor e otimismo durante todo esse tempo foram muito especiais.

A minha família, serei eternamente grata.

Não me esquecerei de queridas pessoas que me encaminharam à pós-graduação: Angela M. Gozzo, Rosana Goldbeck, Vanessa da Silva e Lucielen Oliveira que durante a graduação e início do mestrado foram tão especiais!

Agradeço o apoio psicológico, carinho e amizade da minha querida teacher Patrícia e da pequena Vitória.

Agradeço a Professora Gláucia, minha orientadora, pela oportunidade, carinho e cumplicidade.

Agradeço a banca pelos pareceres preciosos.

Mas quase que, sobretudo, aos amigos que fiz neste longo período.

Dirijo-me primeiramente aos meus co-orientadores. Que tantos são!

À Joana, ou Lu Malta. Co-mãe. Inicialmente pelo companheirismo. Com o passar do tempo, pelo incentivo que me deu, pelas ideias do projeto, que apesar de não estarem "as análises", a essência prevaleceu. Se a realização deste trabalho foi possível, contei com ela nas eternas cobranças (...). Preciso explicar o porquê do nome dela estar na segunda página?

A *Julianas*, que considero co-orientadora de coração. Por ter aberto as portas da Unicamp pra mim, por confiar (e como confiou hein) um projeto tão precioso nas mãos de alguém que nunca tinha visto um HPLC. Ju admiro muito sua força e coragem.

Renata Maria Sancho. Não encontro palavras para agradecer tudo o que fez por mim. Por todo tempo perdido em prol da minha causa. Serei grata eternamente por ter me ensinado tantas coisas, como sequenciar minhas ideias nas análises e até mesmo na escrita do nosso laço eterno (vulgo artigo). Não só pelo vínculo profissional, mas também pelo companheirismo campineiro.

Simi (vulgo Ana Paula Simiqueli) agradeço pela grande força no trabalho, paciência e amizade. Sua ajuda foi muito importante numa época muito difícil...

Para finalizar a "co-orientação" deste trabalho, não deixo me esquecer de que ao final de tudo o Profº Drº Juliano Bicas, me ajudou muito. Agradeço imensamente e peço desculpas pelas minhas confusões.

Querida Dimis (Maysa): agradeço pela amizade e sabedoria, pelas vezes que perdeu seu precioso tempo me ensinando as metodologias, explicando e re-explicando... agradeço também pelos ensinamentos sobre procedimentos *in vivo* que muito possivelmente, não verei mais...

Agradeço aos Biofriends, Henrique, o mascote, que por eternas vezes me ensinou e ajudou com os cálculos e as estatísticas; e Gustavo pela parceria.

Também agradeço a parceria e trabalho do Sr. Léo.

À técnica do nosso laboratório Angélica que com tanta paciência e dedicação trabalha por todos nós.

À amizade e ajuda de Moliniquetz (GM) por não me deixar desanimar!

E aos demais colegas, Érica Mara (início e fim...), Ana Stela (ahh), Ana Flávia, Angélica Aparecida, Jane – Levi, Bruno, Cristiano, Marlene, Murilo, Mari Pimentel, Carlos, Marina, Meíssa, Ruan e Livia (Bioquímica), Nadir (Ae Galera), Dora e Débora.

À todos funcionários da FEA.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio ao projeto. Enfim, a todos que se acham no direito de estar aqui e que de alguma forma contribuíram para que eu me tornasse uma pessoa melhor. Profissionalmente e mais humana.

VERÔNICA PAVAN

INTRODUÇÃO GERAL

A Organização Mundial da Saúde (2003) indica que um consumo diário de 400 gramas de frutas e hortaliças (equivalente a cinco porções por dia) diminui o risco de doenças cardiovasculares, crônicas, dentre outras.

Além de serem saudáveis, as frutas contêm substâncias que podem prevenir e retardar o desenvolvimento de algumas doenças. Estas substâncias incluem compostos fenólicos, que têm atividade antioxidante (AA) (SENGER *et al.*, 2011; VAN DEN ENDE *et al.*, 2011). Os efeitos benéficos atribuídos aos compostos presentes nos alimentos sobrevivendo de vários estudos foram inicialmente conduzidos usando extratos químicos. No entanto, estes estudos podem não refletir sua real atividade fisiológica.

Neste sentido, pesquisas recentes investigaram os conteúdos de fenóis totais (FT), flavonoides totais (FLT) e antocianinas, além da AA de legumes, frutas e seus extratos após a digestão gastrointestinal *in vitro* (FALLER *et al.*, 2012; BOUAYED *et al.*, 2011; SANCHO & PASTORE, 2012).

É relatado que, a complexidade do extrato influencia na liberação de determinados compostos e nas suas estruturas químicas (RECHNER *et al.*, 2002; OLIVEIRA & BASTOS, 2011). É conhecido que os compostos fenólicos podem estar associados a carboidratos, ácidos, aminoácidos e outras moléculas, e que o processo de digestão pode causar a liberação destes compostos associados que induzem mudanças na AA. Por esta razão, se faz necessário avaliar a influência exercida por estes compostos ligados (FALLER *et al.*, 2012; GIMÉNEZ *et al.*, 2013; TAVARES *et al.*, 2012; BOUAYED *et al.*, 2011).

Embora seja conhecido que carboidratos e compostos fenólicos tenham funções distintas, pesquisas recentes têm demonstrado que pode ocorrer interação entre estes compostos e que os mesmos podem participar de ações

metabólicas em sinergismo (OLSSON *et al.*, 2004; BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2010). Conforme descrito na literatura, determinados compostos fenólicos glicosilados (BEHLING, 2004; LAJOLO & GENOVESE, 2001; RIBANI, 2006), que não são absorvidos são fermentados pela microbiota no intestino humano (SANTOS-BUELGA & SCALBERT, 2000). Entretanto, não existem relatos sobre o potencial antioxidante e prebiótico destes compostos após serem hidrolisados, na digestão, e fermentados pela microbiota intestinal.

Apesar da reconhecida relevância dos estudos que envolvem a digestão de frutas, hortaliças e grãos (FALLER *et al.*, 2012), os modelos de fermentação colônica *in vitro* se revelam de grande importância por demonstrar parte do metabolismo das substâncias fenólicas no cólon. Entretanto, estes estudos ainda são raros e conseqüentemente ainda não estão bem esclarecidos.

A partir de 2005, estudos começaram a demonstrar que a colonização intestinal humana está relacionada com diversas doenças, como doença de Crohn, obesidade, entre outras (PAYNE *et al.*, 2012). Para auxiliar este entendimento, torna-se importante o estabelecimento de métodos *in vitro*, que se aproximem das condições intestinais humanas. Os métodos *in vitro*, além de não imporem restrições éticas, são mais simples e rápidos que os estudos *in vivo* (CORREA-BETANZO *et al.*, 2014).

A jaca (*Artocarpus heterophyllus*), fruta exótica da cultura popular brasileira apresenta características importantes como a atividade biológica (Jagtap & Bapat, 2010); *Annona marcgravii* (araticum), por sua vez, não apresenta estudos referente a estes mecanismos, mas outras frutas pertencentes à mesma família têm mostrado AA proeminente em seus extratos (ROESLER *et al.*, 2006, MANACH *et al.*, 2004).

Assim o presente estudo avaliou os níveis de FT, FLT, AA e o perfil de carboidratos dos extratos brutos, digeridos gástricos, digeridos intestinais e fermentados, das frutas acima referidas e ainda pouco estudadas, antes e após a digestão *in vitro* e também após a fermentação por bactérias probióticas *in vitro*.

Estas frutas foram relacionadas por conterem compostos bioativos de extrema importância, cuja interação, como AA e prebióticos, ainda é insuficiente.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

A teoria idealizada por Hipócrates há cerca de 2.500 anos, de que alimentos poderiam prevenir ou até mesmo curar enfermidades tem sido cada vez mais elucidado nos últimos anos com o desenvolvimento de pesquisas. O estudo com plantas e ultimamente estudos envolvendo grande número de frutas torna claro que as características deles nos remete a sua ideologia: "Que seu alimento seja teu remédio e teu remédio teu alimento" (HUE & KIM, 1997).

Em meados dos anos 80, foi alocado o termo "funções dos alimentos" em um programa do Ministério de educação, ciência e cultura no Japão para alimentos que trouxessem benefícios a vida da população idosa. A partir disso, diversas definições começaram a surgir em várias partes do planeta até 1995, onde se acordou na Conferência do Instituto Internacional de Ciências da Vida (ILSI) sobre as perspectivas dos alimentos funcionais que a defende: "Alimentos que melhoram ou afetam benéficamente as funções metabólicas, além do potencial nutricional, de forma a reduzir os riscos de doenças" (DIPLOCK *et al.*, 1999).

Muitos artigos relacionados a pesquisas sobre os alimentos funcionais já comprovam os benefícios dos alimentos sobre a saúde. ANJO (2004) descreveu seu ponto de vista sobre e os alimentos consumidos em algumas regiões e relacionou as substâncias presentes nesses alimentos com a ausência de certas doenças. Citou exemplos de baixa incidência de doenças cardiovasculares em esquimós pelo consumo de peixe, que contendo ômega 3 e 6 diminuem a tendência do desenvolvimento da doença, assim como em europeus consumidores de vinho, que apresenta alto teor de compostos fenólicos. Outros pesquisadores também associaram a análise da composição dos alimentos e as diversas descobertas que essas substâncias exercem sobre o metabolismo

envolvidas na prevenção de doenças, como a melhora no sistema imunológico (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002), redução da proliferação celular cancerosa em células mamárias (CORDEIRO *et al.*, 2009), transcrição e no mecanismo anti-amiloidogênico, caracterizando potencial terapêutico do resveratrol (BOURRE, 2006; VINGTDEUX *et al.*, 2008), e no sistema cardiovascular (RATHEE *et al.*, 2012; MORI *et al.*, 2008).

Isso ocorre pela presença de algumas substâncias chamadas atualmente de compostos bioativos, que em pequenas quantidades agem de forma eficiente em determinados eventos no organismo.

1.2. COMPOSTOS BIOATIVOS

Substâncias bioativas são classificadas pela vigilância sanitária através da RDC nº 2 /2002 (ANVISA, 2002). Essa resolução engloba substâncias bioativas em sua forma farmacêutica, com alegação de propriedade funcional. Com o desenvolvimento científico nesta área de substâncias bioativas houve necessidade de elaboração de uma legislação que abordasse esses nutrientes presentes ou adicionados a alimentos e com alegações já definidas pela ciência. O Informe Técnico nº 9 de maio de 2004 possibilita que alegações sobre nutrientes amplamente estudadas sejam aplicadas a produtos dispensados de registro. Entretanto, há algumas restrições, como apresentar o nutriente no alimento em sua composição intrínseca, serem alimentos de uso comum e não ocasional, entre outros.

Estas substâncias bioativas exercem efeitos benéficos fisiológicos ao organismo, prevenindo e agindo sobre certas doenças. São responsáveis por tornar um alimento qualquer em um alimento funcional, como descrito por PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002, CORDEIRO *et al.*, 2009, BOURRE, 2006; VINGTDEUX *et al.*, 2008, entre outros.

Os compostos bioativos podem ser facilmente encontrados em plantas, como frutas, vegetais, hortaliças e outros. Estudos recentes demonstram que os

compostos bioativos estão envolvidos em questões ligadas diretamente a prevenção de algumas doenças, pois exercem funções antimicrobiana, anticancerígena, anti-inflamatória e atividade antioxidante e são classificados de acordo com a Tabela 01. (SKINNER & HUNTER, 2013).

Tabela 01: Algumas frutas e seus efeitos na saúde

NOME POPULAR	NOME CIENTÍFICO	ATIVIDADES FUNCIONAIS	MODELO EXPERIMENTAL	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
Tangerina	<i>Citrus reticulata</i>	Anticâncer	<i>in vitro</i>	FAYED, 2009
Birí	<i>Coccinia indica</i>	Antimicrobiana	<i>in vitro</i>	SHAHEEN <i>et al.</i> , 2009
Romã	<i>Punica granatum</i>	Antioxidante	<i>in vitro</i>	JARDINI <i>et al.</i> , 2010
Murici	<i>Byrsonima crassiflora</i> L. Rich	Antigenotóxica e antimutagênica	<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	MALTA, 2011
Calabura	<i>Muntingia calabura</i>	Anti-inflamatório	<i>in vivo</i>	PREETHI <i>et al.</i> , 2012
Pitaya	<i>Hylocereus</i>	Prebiótica	<i>in vitro</i>	WICHIENTHOT <i>et al.</i> , 2010
Lichia	<i>Litchi chinensis</i>	Anticâncer	<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	WANG <i>et al.</i> , 2006

Os compostos bioativos são representados pelo grupo de compostos fenólicos, fibras dietéticas, lipídeos funcionais, proteínas, peptídeos e os carotenoides (Figura 01).

Os compostos fenólicos, bioativos motivadores deste trabalho, são representados por várias moléculas de interesse na ciência e tecnologia de alimentos, já que representam efeitos benéficos à saúde impulsionando a indústria de alimentos a inseri-los em novos produtos com objetivo de agregar valor nutricional. LOURES *et al.*, (1990) já avaliavam a interação de agentes fisiológicos de banana verde, MAZIERO *et al.*, (2009) avaliaram adição de inhame em pães, DOS SANTOS *et al.*, (2008) descreveram sobre a correlação da atividade antioxidante e compostos bioativos em polpas comerciais de açaí, e além da aplicação de compostos bioativos nos alimentos. Outro aspecto muito observado em estudos atuais é a utilização de resíduos agroindustriais objetivando a

obtenção de compostos bioativos para a indústria farmacêutica, como o óleo essencial extraído de resíduos de laranja feito por BENELLI (2010).

Alguns compostos bioativos são degradados durante a digestão e em certos casos quando não são absorvidos. Entretanto, outros compostos podem ser absorvidos no trato gastrointestinal chegando ao sistema circulatório e distribuído pelo organismo, isso depende da estrutura química de cada um deles (SKINNER & HUNTER, 2013).

1.2.1. COMPOSTOS FENÓLICOS

Os alimentos são constituídos, em sua maioria, por água, carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas, minerais e fibras. Em especial, nos vegetais podem estar presentes os compostos fenólicos (HARBORNE & WILLIAMS, 2000), que são considerados metabólitos secundários (aleloquímicos) com papel principal de defesa dos vegetais (CARRATU & SANZINI, 2005), mas também dotados de outras funções. Substâncias aleloquímicas podem ser representadas por esses compostos fenólicos, mas também por compostos aromáticos, álcoois, ácidos, aldeídos, entre outros (HEPP *et al.*, 2009).

Os compostos fenólicos são dotados de um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas ligados. Esta classe está classificada através da cadeia de carbono, como simples fenóis (C_6), ácidos fenólicos ($C_6 - C_1$), acetofenonas e ácidos fenilacéticos ($C_6 - C_2$), ácidos hidrocínâmicos ($C_6 - C_3$), antraquinonas ($C_6 - C_4$), estilbeno ($C_6 - C_2 - C_6$), flavonoides ($C_6 - C_3 - C_6$), lignanas ($C_6 - C_3$)₂, ligninas ($C_6 - C_3$)_n, proantocianidinas ($C_6 - C_3 - C_6$)_n, entre outros, representados na Figura 02 (APAK *et al.*, 2007; SKINNER & HUNTER, 2013).

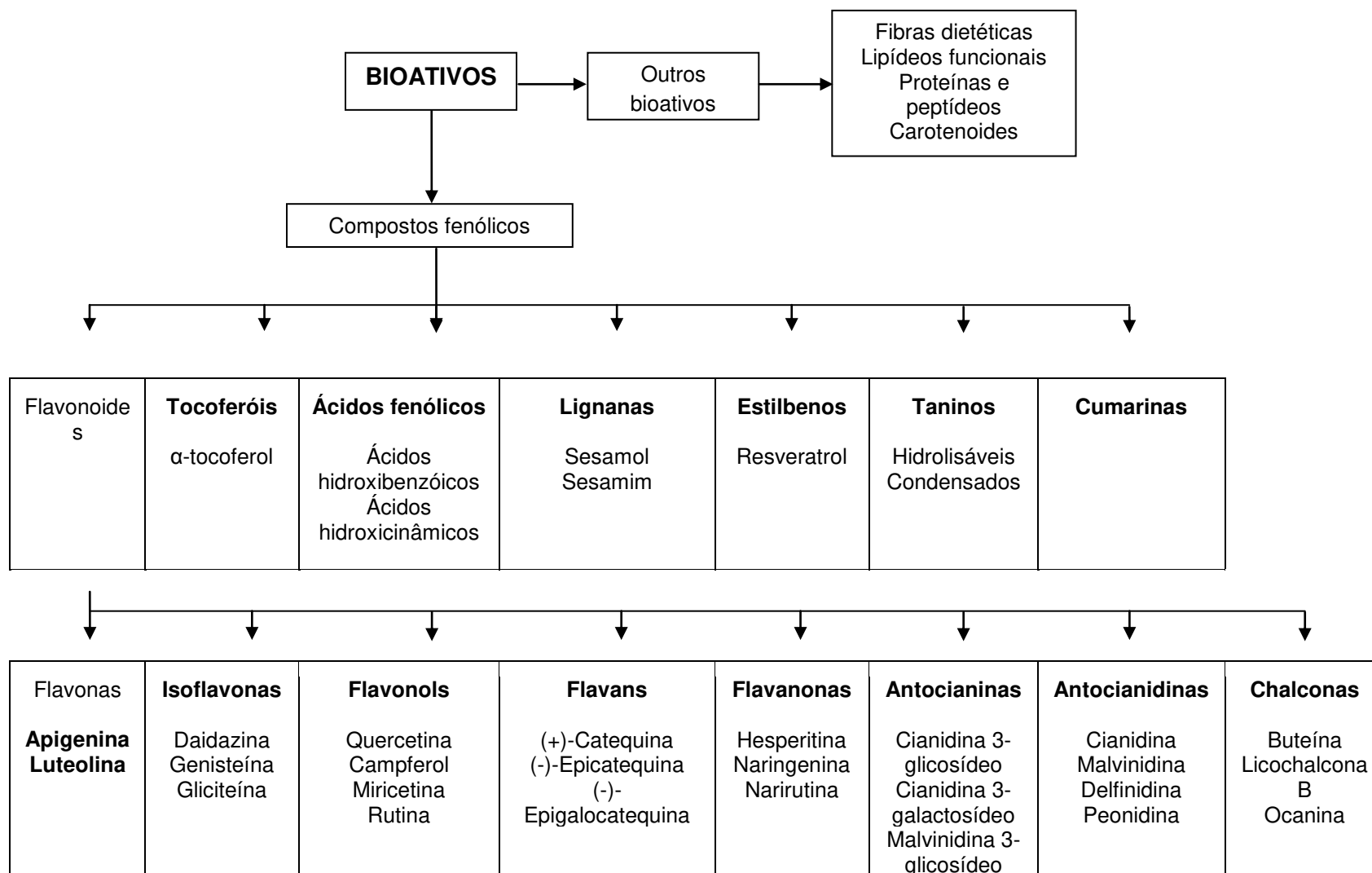
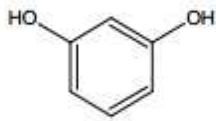
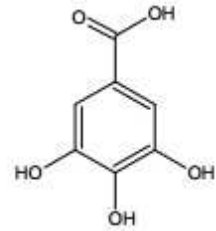


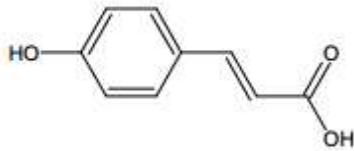
Figura 01: Esquema de compostos bioativos. Fonte: SKINNER & HUNTER, 2013



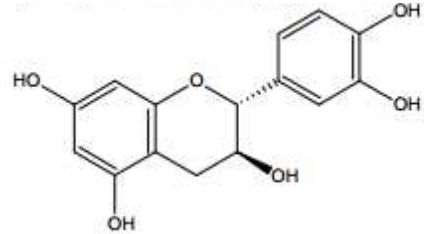
Fenóis simples (resorcinol)



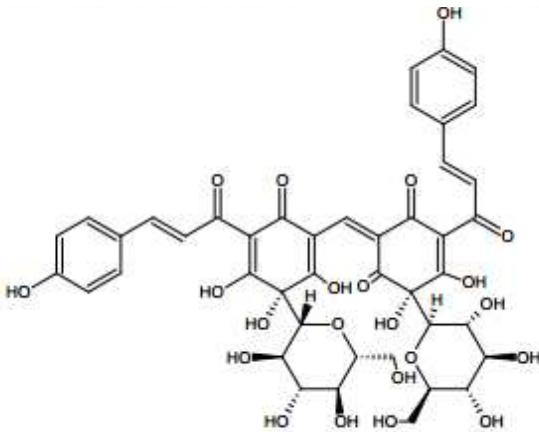
Ácidos hidroxibenzóicos (Ácido gálico)



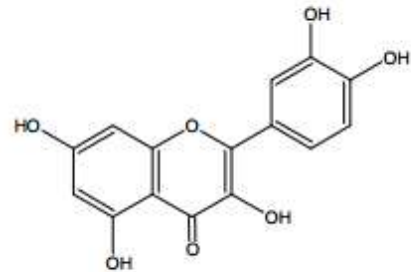
Ácidos hidroxicinâmicos (p-cumarico)



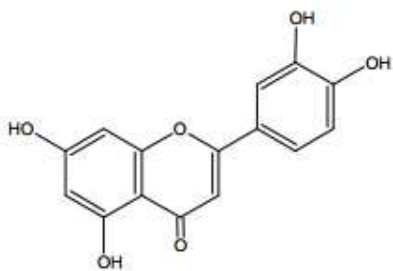
Flavanols (flavan-3-ols (+) catequina)



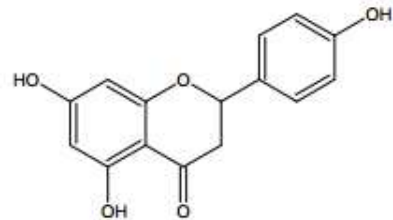
Chalcona (cartamina)



Flavonol (quercetina)



Flavona (Luteolina)



Flavonona (Naringenina)

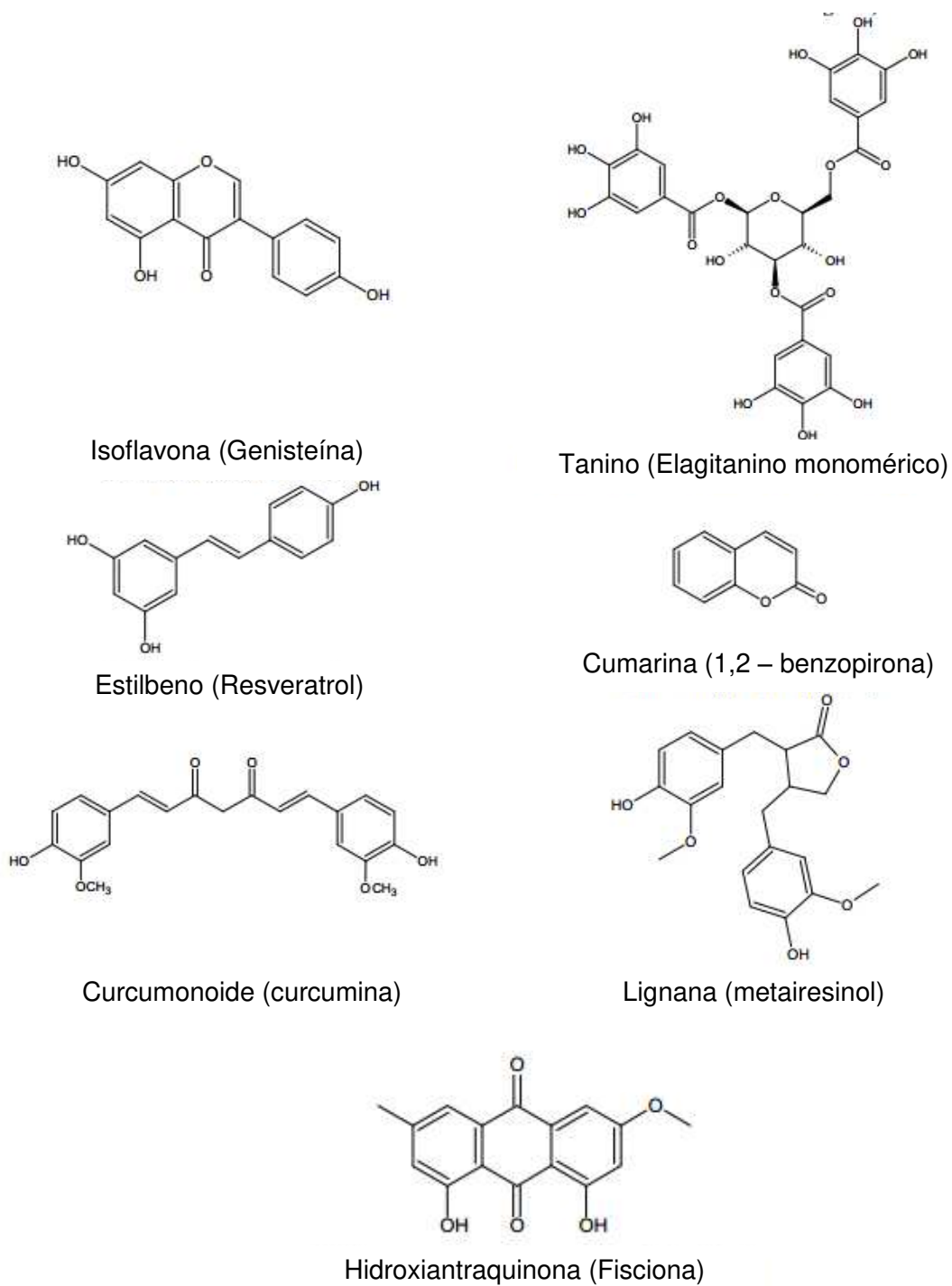


Figura 02: Representação de compostos fenólicos. Fonte: APAK *et al.*, 2007.

Um dos grupos mais pesquisados dos compostos fenólicos são os flavonoides, que compreende oito classes de diferentes compostos: flavona, isoflavona, flavonol, flavana, flavonona, antocianidina, antocianina e chalcona.

Os flavonoides, como representado pela estrutura na Figura 03, contêm dois anéis aromáticos ligados por três átomos de carbono em uma estrutura cíclica contendo um átomo de oxigênio.

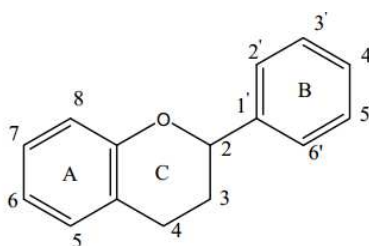


Figura 03: Estrutura genérica dos flavonoides. APAK *et al.*, 2007.

Os compostos fenólicos estão presentes nos vegetais na forma livre como agliconas (não ligadas a carboidratos) e na forma glicosilada, mais abundante, que apresenta uma ou mais hidroxila ligadas a carboidratos (glicose, galactose, entre outros) ou ainda ligados a ácidos lábeis e / ou proteínas (APAK *et al.*, 2007; SKINNER & HUNTER, 2013; BRAVO, 1998; CROFT, 1998). São encontrados facilmente em frutas e hortaliças (LARSON, 1988), café (DAGLIA *et al.*, 2000), vinho (GOLDBERG & SOLEAS, 2003), entre outros.

Cada um desses compostos glicosilados apresenta uma característica específica, que é dependente da estrutura. Mudanças na estrutura podem ocorrer por hidrólise do composto fenólico glicosilado, em condições ácidas, básicas ou mesmo na presença de enzimas. Como exemplo, mudanças no pH afetam diretamente a estrutura de flavonoides e antocianinas, sendo que esses compostos são mais estáveis em ambientes ácidos e a alteração para meios neutros e alcalinos podem levá-los a modificação na estrutura química e deixarem de ter as determinadas funções que antes apresentavam, como atividade antioxidante (BRAVO, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2009; HUR *et al.*, 2014).

1.2.1.1. COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os benefícios à saúde de certos alimentos são apresentados muitas vezes pela sua composição dotada naturalmente de compostos bioativos que podem ser responsáveis pelos aspectos positivos na saúde, mas também, em muitas vezes, responsáveis pela cor, aroma e adstringência dos alimentos (PELEG *et al.*, 1998).

Nos dias atuais é muito comum a procura pelos benefícios de compostos bioativos com atividade antioxidante, presentes em muitos alimentos e bebidas (ANDRÉ *et al.*, 2010).

Para que tenha efeito antioxidante é preciso que o composto esteja em quantidades mínimas em relação ao substrato oxidativo presente na amostra (GUTTERIDGE, 1994; AZZI & DAVIES, 2004).

Segundo RATNAM *et al.*, (2006) podemos classificar os antioxidantes em enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são sintetizados endogenamente e representados pelas enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, entre outras.

Os antioxidantes não enzimáticos podem ser adquiridos através da ingestão de alimentos (LIU *et al.*, 2004). Esses estão em maior abundância quando comparado aos antioxidantes enzimáticos (RATNAM *et al.*, 2006).

Entre os compostos bioativos com atividade antioxidante podemos citar as vitaminas antioxidantes, como ácido ascórbico e tocoferóis, os carotenoides, os compostos fenólicos, que compreendem uma grande classe de compostos com diversas ações e características, lignanas, estilbenos, entre outros (MORAES & COLLA, 2007; MANACH *et al.*, 2004).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários, de acordo com seu mecanismo de ação. Os antioxidantes primários neutralizam radicais livres e espécies reativas de oxigênio que podem causar inúmeras doenças. Os antioxidantes secundários podem agir através de diferentes

mecanismos como quelantes de metais pró-oxidantes, inativação do oxigênio singlete, sequestro de oxigênio triplete e regeneração de antioxidantes primários (RATNAM *et al.*, 2006; APAK *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos fazem parte do grupo de antioxidantes primários, impedindo que espécies reativas ataquem lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos causando danos celulares e estão envolvidos na prevenção de algumas doenças degenerativas (GUTTERIDGE, 1994; AZZI & DAVIES, 2004; MALTA, 2011; RATNAM *et al.*, 2006).

JARDINI *et al.*, (2010) analisaram semente e polpa de romã e verificou expressiva atividade antioxidante, mesmo apresentando baixas concentrações de compostos fenólicos, assim como MALTA *et al.*, (2013) que verificaram alta atividade antioxidante de frutas do cerrado brasileiro, tais como murici, a gabioba, a guapeva; e o araticum analisado por ROESLER *et al.*, (2006). CHIANG *et al.*, (2013) avaliaram a atividade antioxidante de *goosberry* durante a digestão *in vitro* e verificou aumento significativo quando relacionados aos compostos fenólicos.

1.3. CARBOIDRATOS

Sabe-se que muitos compostos fenólicos estão ligados a carboidratos e apresentam efeitos supostamente semelhantes ao de algumas fibras solúveis.

Os carboidratos representam uma das classes de nutrientes mais importantes dos alimentos. Atuam principalmente como fonte de energia para organismos vivos (glicose, amido), também como estrutura e sustentação de plantas (celulose), ou mesmo conferindo o gosto doce às frutas (sacarose, frutose). Podem ser classificados em:

- ✓ Monossacarídeos são carboidratos que não sofrem hidrólise, pois já apresentam unidades simples, exemplos são: glicose, frutose, galactose.
- ✓ Os oligossacarídeos são carboidratos combinados de dois a dez unidades monossacarídicas, sendo a principal classe os dissacarídeos -

carboidratos formados por duas unidades de monossacarídicas, a sacarose, a maltose e a lactose. Os oligossacarídeos também incluem os trissacarídeos, tetrassacarídeos, entre outros, como exemplos a rafinose, estaquiase, isomaltotriose, fruto-oligossacarídeos, oligossacarídeos de soja, isomalto-oligossacarídeos, xilo-oligossacarídeos, malto-oligossacarídeos, quitino-oligossacarídeos e galacto-oligossacarídeos e derivados, entre outros (SOLOMONS & FRYHLE, 2009; CHO *et al.*, 2011; DAMODARAN *et al.*, 2010).

✓ Os carboidratos formados por mais de 20 monossacarídeos são chamados de polissacarídeos e quando hidrolisados formam grande número de mono, dissacarídeos, oligossacarídeos e seus derivados. Exemplos de polissacarídeos são: amido, pectina, celulose, frutanas, entre outros (SOLOMONS & FRYHLE, 2009).

1.3.1. OLIGOSSACARÍDEOS

Dentre os carboidratos apresentados, alguns oligossacarídeos tem ganhado destaque na indústria por apresentarem propriedades interessantes, como a doçura da sacarose (CABALLERO *et al.*, 2003).

Do ponto de vista científico, os oligossacarídeos não digestíveis derivados de plantas ganham destaque devido as propriedades causadas pelas ligações que os compõe, que podem ser frutossil-frutose, no caso de inulina e oligofrutose, ambos considerados fibras dietéticas solúveis (BONNEMA *et al.*, 2010), que diferem entre si através do número de moléculas individuais dos monossacarídeos que os compõe, considerados grau de polimerização, já que são constituídos por uma cadeia de frutose com uma glicose terminal.

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são formados por oligômeros de frutose ligados a uma molécula de sacarose, formando GF_n , onde G corresponde à unidade terminal de glicose e F às n unidades de frutose. Os FOS apresentam de 2 a 20 unidades de frutose de cadeia maior, seguido de 1-kestose (GF_2), nistose (GF_3) e frutofuranosil-nistose (GF_4), (CARABIN & FLAMM, 1999; MUSSATO & MANCILHA, 2007; CHO *et al.*, 2011) onde, nos três últimos,

as unidades de frutose estão ligadas a uma unidade de sacarose por ligação β (2 \rightarrow 1) (YUN, 1996) (Figura 04).

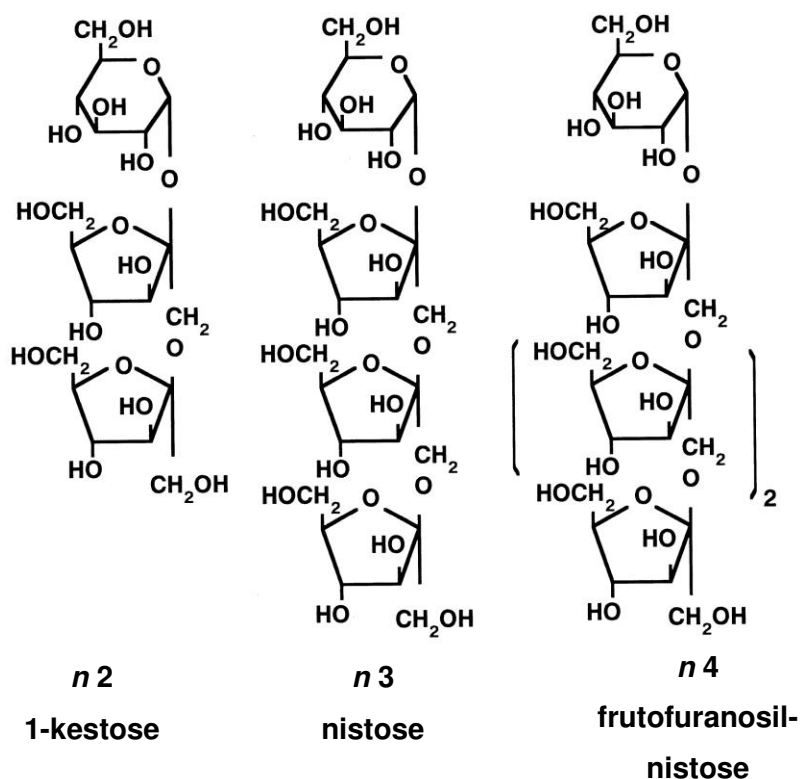


Figura 04: Estrutura química dos fruto-oligossacarídeos. Fonte: OHTA *et al.*, (1998).

Além das propriedades físico-químicas dos oligossacarídeos (BORNET, 1994; PASSOS & PARK, 2003) outro aspecto de interesse são as propriedades fisiológicas dos frutanos sobre a saúde. Diferente dos polissacarídeos e dissacarídeos, que são hidrolisados a partir da mastigação na presença de enzimas ou hidrólise ácida (SANIOTO, 1991), alguns oligossacarídeos não são hidrolisados completamente. E, dessa maneira, são fermentados pela microbiota intestinal comportando-se como prebióticos, já que promovem o crescimento seletivo das bactérias benéficas como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterias* spp. Com a fermentação desses carboidratos, o pH diminui, acidificando o colón promovendo as bactérias acidófilas (HARTEMINK *et al.*, 1997; GIBSON *et al.*, 2004; GIBSON & ROBERFROID, 1995; SAAD *et al.*, 2007).

Os prebióticos proporcionam assim, um crescimento seletivo da microbiota e, além disso, são responsáveis pela formação de ácidos graxos de cadeia curta no cólon através da sua fermentação melhorando a absorção de outros nutrientes, como os minerais (LOUIS *et al.*, 2007).

1.4. BIODISPONIBILIDADE DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

A biodisponibilidade abrange vários processos integrados: liberação da substância da matriz alimentar, absorção pelo organismo, distribuição, metabolismo e excreção (OLIVEIRA & BASTOS, 2011).

Alguns fatores presentes nos alimentos alteram a biodisponibilidade dos compostos bioativos, como a complexidade da matriz, a estrutura química do composto, a estrutura e quantidade disponível de outros compostos ingeridos (fatores exógenos) e ainda o tempo de trânsito intestinal, taxa de esvaziamento gástrico, metabolismo do composto e grau de conjugação, possíveis interações com proteínas na circulação sanguínea, composição da microbiota intestinal e o perfil genético do indivíduo (fatores endógenos) (HOST & WILLIAMSON, 2004).

Para se afirmar que um composto bioativo é biodisponível são necessárias algumas análises, a começar pela estrutura. Certos compostos, quando em sua forma livre, podem estar mais favoráveis a absorção. Outro aspecto relevante envolvendo a absorção é a passagem, da substância, do lúmen para a corrente sanguínea, assim como a distribuição e processo de transferência intra e extravascular e o metabolismo que abrange a forma química mais eletrofílica e, portanto mais suscetível a excreção dos compostos não modificados ou de seus metabolitos conjugados (HOST & WILLIAMSON, 2004).

1.4.1. BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Biodisponibilidade é a fração da matriz alimentar que é assimilada e utilizada em funções metabólicas. Dessa forma, para se entender a propriedade funcional de cada composto fenólico é preciso conhecer a estrutura de cada um

deles e avaliar como agem perante a digestão e absorção (SANCHO & PASTORE, 2012).

Sabe-se que os compostos fenólicos mais comumente encontrados em alimentos não são os mais ativos biologicamente por diversos fatores, como baixa atividade intrínseca, reduzida absorção intestinal, atividade metabólica e excreção (MANACH *et al.*, 2004).

Ácidos fenólicos, também por apresentarem uma estrutura simples, quando comparada a um flavonoide, começam a ser absorvidos no estômago. Isso foi verificado por KONISH *et al.*, (2006) e confirmado por LAFAY *et al.*, (2006) que constatou que parte do ácido clorogênico foi detectado no plasma logo após a administração. Entretanto, cada ácido fenólico reage de forma diferente perante a digestão gastrintestinal. De acordo com DE OLIVEIRA & BASTOS (2011), parte dos ácidos hidroxicinâmicos chega ao intestino delgado, onde podem sofrer ação de enzimas locais ou ainda serem absorvidos, e passar posteriormente pelo fígado formando outros compostos que são eliminados na urina pela sua hidrofiliabilidade. Nos mesmos estudos, observou-se também, que a maior parte dos ácidos clorogênicos e hidroxicinâmicos foram metabolizados e absorvidos no cólon. Essa metabolização é realizada pelas bactérias colônicas e os metabólitos formados mais abundantes são ácidos hipúrico, hidroxipúrico, *m*-cumárico, ferúlico, isoferúlico, hidroxifenilpropionico, hidroxibenzoico e vanílico (DE OLIVEIRA & BASTOS, 2011; MANACH *et al.*, 2005).

Outra categoria de compostos bioativos, as proantocianidinas ou taninos condensados apresentam alto peso molecular e ligação geralmente do tipo α . Estes compostos são hidrolisados durante a digestão gástrica liberando antocianidinas, pertencente ao grupo dos flavonoides. Entretanto, outras moléculas podem passar pelo sistema gastrintestinal e chegarem intactas ao cólon, onde serão biotransformadas pela microbiota local (DE OLIVEIRA & BASTOS, 2011).

FIGUEIREDO *et al.*, (2013) sugerem que o grau de polimerização das moléculas é um dos fatores que determinam o local de absorção e metabolismo. Contudo, não há muitos trabalhos que desvendem o metabolismo e absorção das proantocianidinas.

As proantocianidinas são compostas por unidades terminais de (-)-epicatequina e por vezes (+)-catequina e possuem características importantes tais como alta interação com macronutrientes (o que confere a algumas frutas a adstringência, quando há interação com proteínas salivares) e atividade antioxidante. Proantocianidinas de cadeia curta podem chegar ao cólon e serem metabolizadas por bactérias colônicas, enquanto que as proantocianidinas de cadeia longa tem maior possibilidade de serem absorvidos no intestino delgado (BAZZOCCO *et al.*, 2008; FIGUEIREDO *et al.*, 2013).

Por outro lado, o flavonol quercetina, que é encontrado geralmente na forma glicosilada (figura 05) e pode, por vezes, conter β – ligações (ou até mesmo ligações interglicosídicas do tipo 2→1); não é absorvido no intestino delgado pela hidrofiliabilidade e chega ao cólon intacto, onde é fermentado por bactérias colônicas, podendo liberar aglicona. A aglicona pode ser absorvida ou metabolizada facilitando a passagem pela camada fosfolipídica da membrana celular; assim, entra na circulação e é submetida à metilação, glucoronidação e sulfatação no fígado. Diversas formas de quercetina são encontradas em alimentos, como por exemplo, a quercetina-3-rutinosídeo que é uma das formas mais abundantes, porém apresenta baixa absorção, contrastando com a quercetina-4-glicosídeo, que tem maior taxa de absorção quando comparada a quercetina-3-rutinosídeo (MUROTA & TERAU, 2003; SCALBERT & WILLIAMS, 2000; HORST & LAJOLO, 2009; SANTOS-BUELGA & SCALBERT, 2000; BEHLING *et al.*, 2004).

Outro fator que impacta diretamente na biodisponibilidade dos compostos fenólicos é o pH ao qual essas moléculas estão sujeitas durante o sistema

gastrointestinal, sendo que a acidez torna algumas moléculas mais estáveis, como antocianinas e ácidos fenólicos (DAVIES, 1979; LANDETE, 2012).

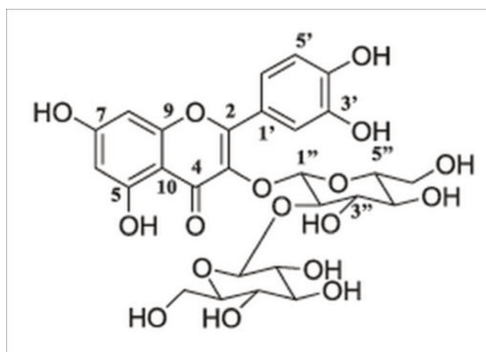


Figura 05: Quercetina 3-O-soforosídeo. Fonte: REGASINI *et al.*, 2008.

A microbiota intestinal pode exercer papel importante no metabolismo de compostos fenólicos, pois após a clivagem da ligação éster estes podem ser absorvidos pela mucosa intestinal ou mesmo passarem pela corrente sanguínea. Além disso, podem permanecer no cólon e serem metabolizados pela microbiota local (OLIVEIRA & BASTOS, 2011; CROZIER *et al.*, 2009).

Um estudo de CRESPIY *et al.*, (1999) comparou a absorção de aglicona, quercetina e rutina e mostraram a digestão no intestino grosso pela microbiota intestinal.

1.4.2. BIODISPONIBILIDADE DE CARBOIDRATOS

A ingestão de carboidratos envolve vários processos, dentre eles a secreção, hidrólise e absorção, sendo que quaisquer alterações metabólicas podem mudar o ciclo e assim despertar alguns distúrbios.

Na ingestão, já se inicia o processo de digestão, através de enzimas salivares, como a amilase, que hidrolisa pequena parte do amido consumido. A digestão iniciada na exposição salivar libera maltose e glicose e isso causa uma reposta glicêmica rápida, estimulando a liberação de insulina. Além da amilase bucal, outras enzimas pancreáticas, classificadas como hidrolases que realizam a

digestão dos carboidratos, como sacarase, isomaltase, maltase, trealase, entre outras (SANIOTO, 1991).

Após essas hidrólises, os monossacarídeos liberados podem ser absorvidos pelo intestino delgado e utilizam transportadores que farão a passagem do monossacarídeo do lúmen para a célula, por difusão facilitada ou transporte ativo, dependendo do transportador, que pode apresentar íon sódio (Na^+) acoplado ou não.

Se não há hidrólise, os carboidratos e fibras dietéticas passam do intestino delgado para o intestino grosso e são hidrolisados e fermentados pela microbiota local (GIBSON & ROBERFROID, 1995). Com essa fermentação, liberam alguns metabólitos como ácidos graxos de cadeia curta, acetato, propionato, butirato, gás de hidrogênio e metano, que são absorvidos no cólon, por proteínas de transporte do tipo monocarboxilato (ALPERS, 2003).

1.4.3. EFEITO PREBIÓTICO

O organismo humano é um ecossistema de alta complexidade. Isso se deve ao fato de que vários tecidos são colonizados por diversos micro-organismos. Estes micro-organismos exercem funções ainda pouco conhecidas. O sistema gastrointestinal é composto por micro-organismos aeróbios e anaeróbios, que são divididos em duas classes, a microbiota residente ou endógena e a transitória ou exógena. Esses micro-organismos agem de forma sinérgica entre eles e a consequência é a melhora do sistema imune, já que evita a fixação de espécies patógenas (ATOBE, 2003).

Assim sendo, o intestino é colonizado por diversos tipos de micro-organismos, incluindo a microbiota benéfica (*Lactobacillus* sp e *Bifidobacterium* sp) e cepas patógenas. Se há uma propensão à redução na microbiota benéfica, essas cepas patógenas podem se desenvolver e se fixar na parede intestinal (GIBSON & ROBERFROID, 1995; ATOBE, 2003).

MITSUOKA *et al.*, (1976) mapearam a microbiota humana e relataram que no esôfago e estômago há *Lactobacillus* sp numa proporção de 10^{3-5} /g. No intestino delgado observaram *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterobactérias* e *Bacteróides* nas concentrações 10^{3-5} /g, 10^{5-8} /g e 10^{8-10} /g (duodeno, jejuno e íleo, respectivamente). Mas a maior quantidade de micro-organismos foi encontrada no intestino grosso, devido as condições serem mais favoráveis ao crescimento. *Bacteróides*, *Fusobacterium*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacterias*, *Klebsiela*, *Bifidobactérias*, *Lactobacillus*, *Staphilococcus aureus*, *Clostridium*, *Streptococcus* e *Pseudomonas* (totalizando $>10^{10}$ /g) são os micro-organismos mais estudados.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, desses micro-organismos, alguns são denominados probióticos, como os *Lactobacillus*, as *Bifidobacterium* e *Enterococcus*. Outras cepas, apesar de serem mencionadas poucas vezes também apresentam característica probiótica, como *Streptococcus*, *Bacillus* e *Saccharomyces*. A função desses probióticos na microbiota intestinal é conferir benefícios à saúde do hospedeiro (WHO, 2002).

Em Abril de 2008, segundo o portal de Vigilância Sanitária de Alimentos no Brasil, algumas mudanças foram realizadas na legislação que abrange os ingredientes alimentares. Entretanto, a legislação brasileira é falha perante a definição desses prebióticos. Já, no que diz respeito aos probióticos, alega que: “O microrganismo probiótico contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis” e inclui 10 micro-organismos com tal característica, são eles: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei vr rhamnosus*, *Lactobacillus casei vr defensius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* e *subsp lactis*, *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faeciu* (BRASIL, 2008).

GIBSON & ROBERFROID (1995) definiram prebióticos como "*ingredientes alimentares que afetam benéficamente o hospedeiro e estimulam seletivamente o crescimento dos probióticos*".

Atualmente, estudos demonstram que apesar da relevância dos probióticos e prebióticos, os compostos fenólicos se tornam cada vez mais importantes quando mencionado a prevenção de doenças (JUNEJA *et al.*, 2013).

Atualmente, alguns estudos vinculam o termo prebiótico a outras substâncias, como, por exemplo, alguns compostos fenólicos que podem apresentar esse efeito por não serem digeridos. Isso se dá pelo fato de que algumas dessas substâncias chegam ao intestino grosso intactas e então são fermentadas ou metabolizadas pelas bactérias locais. Este assunto ainda é pouquíssimo citado devido à dificuldade de encontrar trabalhos que discutem a interação carboidrato – fenol (LANDETE, 2012).

Assim como carboidratos e fibras solúveis, alguns compostos fenólicos também exercem efeito prebiótico. O termo "efeito prebiótico" é inusitado quando não usado em referência às fibras solúveis, mas isso pode estar diretamente relacionado com as ligações glicosídicas que levam o composto, geralmente de alto peso molecular, a uma interação com a microbiota colônica intestinal, já que chegam intactas pela dificuldade de hidrólise durante o sistema gastrointestinal (LANDETE, 2012).

Alguns estudos indicaram que esse efeito prebiótico dos compostos fenólicos mencionado, já foi percebido quando avaliaram o controle de *Bifidobactérias* e inibição de patógenos durante a administração de chá verde. LARROSA *et al.*, (2009) mostrou o aumento de *Bifidobactérias* e *Lactobacillus* na administração de resveratrol. Outro estudo ministrou 31 compostos fenólicos de chá verde e demonstrou o desenvolvimento de bactérias patogênicas e probióticas (ISHIHARA *et al.*, 2001; JUNEJA *et al.*, 2013).

1.5. FRUTAS

1.5.1. JACA

De nome científico derivado do grego, *Artocarpus heterophyllus* significa "fruta-pão de folhas diferentes" (FERREIRA, 1986). A jaca pertence à família Moraceae, nativa da Índia Ocidental, mas facilmente encontradas em outras localidades como leste da África, sudeste da Ásia, Flórida, Brasil, Austrália e Ilhas do pacífico. A jaqueira desenvolve-se facilmente em regiões úmidas e quentes (SHANMUGAPRIYA *et al.*, 2011) (Figura 06).

A família Moraceae contém 37 gêneros, dentre elas o *Artocarpus*. Geralmente apresentam características arbóreas e representados por cerca de 50 espécies. Destacam-se nesse grupo a *Artocarpus heterophyllus* lamk, introduzida pelos Portugueses no século XVII, a fim de trazer as características e aclimatização de plantas asiáticas; *Artocarpus altilis*, também conhecido como Fruta-pão muito consumida do nordeste e norte brasileiro, *Artocarpus hirsutus* Lam. e *Artocarpus champeden* Spreng que se destaca por suas características da madeira e medicina popular (PEREIRA & KAPLAN, 2013).

A espécie *A. heterophyllus* apresenta dois tipos de variedades: a polpa ou bagos podem ser moles ou duros (*soft* e *firm*, respectivamente). A jaca mole, também conhecida por jaca-manteiga, apresenta maior doçura. Já a jaca dura é muito utilizada no processamento de doces de jaca, como cristalizados, geléias e compotas. Esses bagos podem variar da cor creme até o amarelo escuro (PRETTE, 2012).

Perenifólia e lactescente, a jaqueira pode chegar de oito até vinte e cinco metros de altura, provida de copa e tronco que pode alcançar 60 centímetros de diâmetro. O fruto é um sincarpo que se origina pela inflorescência feminina e é fixado ao tronco, podendo pesar de 1 a 25 kg e variar o tamanho de poucos centímetros até 40 ou mais. A floração e a frutificação ocorrem a partir de outubro até abril (ROHR, 2008).

A jaca, assim como as outras frutas, é constituída por vários compostos bioativos, que são desenvolvidos de acordo com o clima, região, solo e outros fatores. A jaca apresenta quantidades significantes de carotenoides, mas também apresenta compostos denominados lectinas, como jacalina, artocarpina, entre muitos outros. Estes compostos são encontrados em abundância na espécie aqui estudada e a principal função das lectinas é a capacidade de ligação com carboidratos (TRINDADE *et al.*, 2006; SWAMI *et al.*, 2012; FANG *et al.*, 2008). Além desses, apresenta também compostos fenólicos (LEE *et al.*, 2013). A tabela 02 apresenta os compostos bioativos identificados da jaca.

Tabela 02: Compostos bioativos encontrados no gênero *Artocarpus* de acordo com a literatura

FRUTA	COMPOSTOS BIOATIVOS	REFERÊNCIAS
<i>A.heterophyllus</i> polpa	<i>Artocarpesin</i> ([5,7,2',4'-tetrahydroxy-6-(3-methylbut-3-enyl) flavone]) <i>Norartocarpetin</i> (5,7,2',4'-tetrahydroxyflavone) <i>Oxyresveratrol</i> ([trans-2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene])	FANG <i>et al.</i> , 2008
<i>A.altilis</i> polpa	<i>8-geranyl-3-(hydroxyprenyl)isoetin</i> <i>10-oxoartogomezianone</i> <i>Isocycloartobiloxanthone</i> <i>Furanocyclocommunin</i>	WEN-CHUN LAN <i>et al.</i> , 2013
<i>A.heterophyllus</i> polpa	<i>Resveratrol</i> (trans-3,5,4'-Trihydroxystilbene)	SHRIKANTA <i>et al.</i> , 2013
<i>A.heterophyllus</i> polpa	<i>Cafeic acid</i> (3-(3,4-Dihydroxyphenyl 2-propenoic acid) <i>Ferulic acid</i> (E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoic acid)	LEE <i>et al.</i> , 2013
<i>A.heterophyllus</i>	<i>Artocapanone</i> <i>Artocarpetin</i> <i>Dihydromorin</i> <i>Cyanomaclurin</i> <i>Artocarpin</i> <i>Norartocarpetin</i>	LIN <i>et al.</i> , 1995

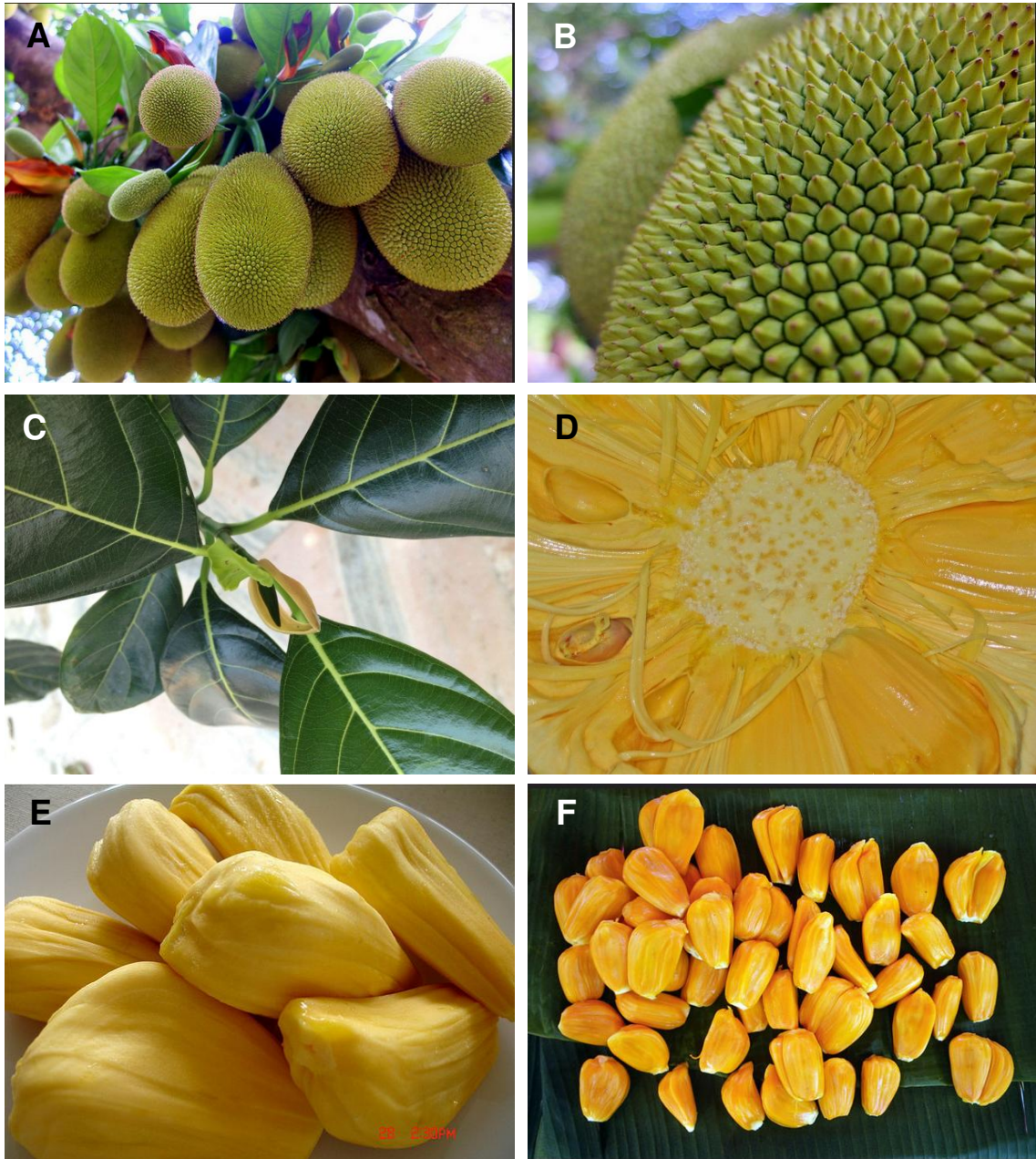


Figura 06: (A) Jaqueira com frutas; (B) Casca; (C) Folhas; (D) Corte; (E) polpa e (F) polpa (Fotos: Flickr).

1.5.2. ARATICUM

Pertencente à família Annonaceae, o gênero *Annona* contém cerca de 60 espécies. Entre elas, destacam-se *Annona cherimola* (cherimóia ou anona em Portugal), *Annona coriacea* (muito consumido e conhecido como fruta do conde), *Annona crassiflora* (conhecido como araticum cortiça, marolo ou araticum do cerrado), *Annona foetida* (o araticum catinga), *Annona glabra* (araticum do brejo), *Annona muricata* (conhecido como Graviola), *Annoa squamosa* (Pinha).

O araticum aqui estudado é uma fruta exótica com poucos dados disponíveis: a *Annona montana*, *variação marcgravii*, conhecida popularmente como "falsa graviola" ou guanabana. É nativa da América Tropical – Sul, América Central e Índia Ocidental (OLIVEIRA *et al.*, 2005, BARBALHO *et al.*, 2012; LIM, 2012) (Figura 07).

A árvore da *Annona montana* pode alcançar até 15 m de altura, de troco curto forma copa que ramifica a partir da base. Folhas perenes e densa, verde escura e com brilho. O fruto é oblongo de tamanho que varia de 10 a 20 cm de comprimento. As flores são espessas, creme e triangular (OLIVEIRA *et al.*, 2005, LIM, 2012; MUNIZ, 2008).

A família Annonaceae apresenta uma grande diversidade de substâncias, como compostos de aroma, fenóis, flavonoides, taninos, óleos essenciais, terpenos, esteroides, alcaloides, carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas, entre muitos outros.

A literatura mostra cerca de 400 espécies de Annonaceae que apresenta um alcaloide denominado acetogenina, que é um metabolito secundário principal dessa família, denominada alcalóide. Este composto apresentou efeitos relevantes como, atividade anticâncer, efeito citotóxico, ação antiparasitários, inseticida e imunossupressores (REIS NUNES *et al.*, 2012; LIAW *et al.*, 2005).

Os alcaloides são compostos nitrogenados com caráter básico sintetizados a partir de alguns aminoácidos, como o triptofano, a tirosina e a lisina. Para serem classificados como alcaloides precisam conter um átomo de nitrogênio podendo ou não estar no anel aromático. O número de nitrogênio em sua cadeia vai determinar a basicidade do composto. Os alcaloides podem ser classificados como alcaloides verdadeiros, que são derivados de aminoácidos, apresentam um átomo de nitrogênio em um heterociclo. Protoalcaloides, aminas simples com nitrogênio fora do heterociclo, derivados de aminoácidos, apresentam característica básica e são mais conhecidos como aminas biológicas e por último, os pseudoalcaloides, que não são derivados de aminoácidos, apresentam derivados de base purínica e compostos esteroides e terpenoides (alcaloides indólicos) (PRADO, 2012; IUPAC, 2006).

Outra substância de interesse dessa fruta foram especuladas por REIS NUNES *et al.*, (2012) que citou diversos flavonoides também identificados em Annonaceae, como a pinocembrina, kanakugina, kanakugiol entre outros, que apresentam características mais apolares.

A diversidade de compostos bioativos mais estudados no gênero *Annona* estão descritos na Tabela 03.

Tabela 03: Compostos bioativos encontrados no gênero *Annona* de acordo com a literatura.

FRUTA	COMPOSTOS BIOTIVOS	REFERÊNCIAS
<i>A. squamosa</i> <i>L. (sugar apple)</i> Polpa	<i>Proanthocyanidin</i> <i>Catechin</i> <i>Quercetin</i>	HUANG <i>et al.</i> , 2010
<i>A. muricata</i> Polpa	<i>Cinnamic acid</i> <i>Coumaric acid - hexose</i> <i>5-Caffeoylquinic acid</i> <i>Dihydrokaempferol-hexoside</i>	JIMÉNEZ <i>et al.</i> , 2014
<i>A. muricata</i> Polpa	<i>quercetin</i> <i>Rubinetin</i> <i>gallic acid</i> <i>Apigenin-6-C-glucoside</i> <i>Vitexin</i> <i>Luteolin 3',7-di-O-glucoside</i>	GEORGE <i>et al.</i> , 2012
<i>A. muricata</i> Folha	<i>Quercetin glucoside (quercetin 3-O- α - rhamnosyl-(1^{'''} → 6'')-β-sophoroside)</i> <i>Gallic acid</i> <i>Epicatechin</i> <i>Quercetin 3-O-rutinoside</i> <i>Quercetin 3-O-neohispredoside</i> <i>Quercetin 3-O-robinoside</i> <i>Catechin</i> <i>Chlorogenic acid</i> <i>Argentinine</i> <i>Kaempferol 3-O-rutinoside</i>	NAWWAR <i>et al.</i> , 2012

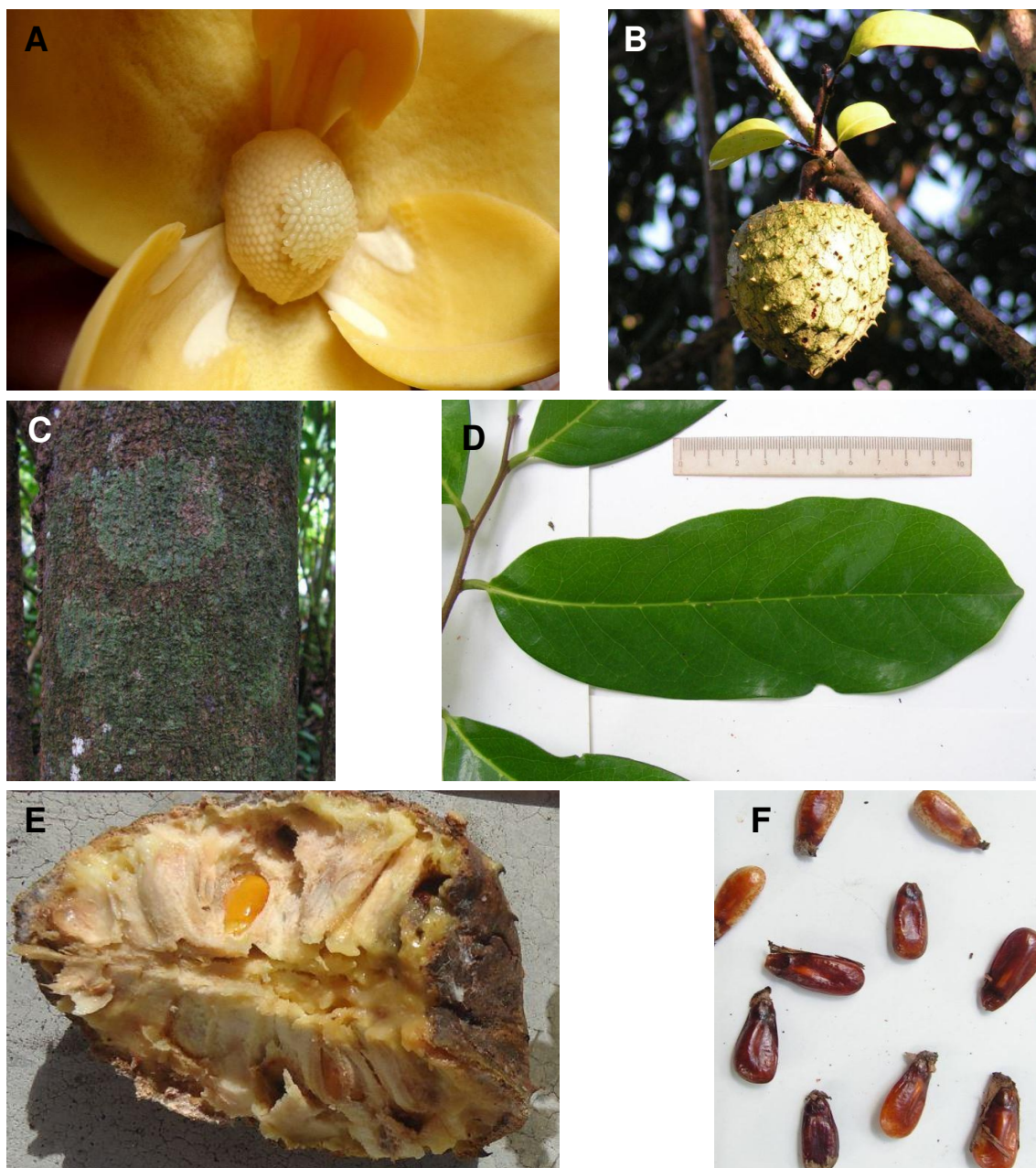


Figura 07: (A) Flor; (B) Fruta imatura; (C) Tronco; (D) Folhas; (E) Fruta madura e (F) sementes (Fotos: Tarciso Leão).

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho objetivou avaliar o perfil da atividade antioxidante na digestão gastrointestinal e fermentação colônica *in vitro* de extratos de frutas analisando o comportamento dos carboidratos e fibras presentes nas amostras.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Quantificar os fenóis totais dos extratos de jaca e araticum;
- ✓ Quantificar os flavonoides totais dos extratos de jaca e araticum;
- ✓ Determinar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos de jaca e araticum através dos métodos *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC) e *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC);
- ✓ Identificar e quantificar monossacarídeos e oligossacarídeos por cromatografia de íons acoplada ao detector amperiométrico pulsado (HPAEC-PAD);
- ✓ Realizar digestão gastrointestinal *in vitro* dos extratos de jaca e araticum;
- ✓ Realizar fermentação colônica *in vitro* dos extratos de jaca e araticum digeridos.
- ✓ Efetuar ensaios de quantificação de compostos fenólicos, atividade antioxidante e carboidratos nas amostras após a digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DAS AMOSTRAS

Cerca de 10 kg (duas unidades) de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L. J3 cv, frutas com polpa dura) foi adquirido no atacado de frutas, vegetais e flores (CEASA) da cidade de Campinas, no estado de São Paulo, Brasil; aproximadamente 1 kg (quatro unidades) de araticum (*Annona montava* cv. *marcgravii*) foi colhida e adquirida no viveiro Saputá em Campina do Monte Alegre, localizada no estado de São Paulo, Brasil. As amostras foram adquiridas em estágio de maturação comercial, com maciez, cor e aspectos específicos de cada fruto. As amostras foram coletadas em abril de 2012.

3.2. PREPARO DOS EXTRATOS

Após serem coletados, os frutos foram imediatamente levados para o Laboratório de Bioaromas e Compostos Bioativos - FEA - UNICAMP, onde foram lavadas, fracionados (separando polpa, sementes e cascas), pesados (500 g de jaca e 300 g de araticum) e liofilizados (Terroni, LS3000, São Paulo, Brasil). As cascas e sementes foram descartadas e apenas a polpa foi utilizada para a preparação do extrato. Este extrato bruto das frutas foi preparado da seguinte maneira: 10 g de cada fruta liofilizada (FL) foram maceradas e reidratadas em 100 mL de etanol a 70% (LabSynth). A mistura foi homogeneizada usando um Ultra Turrax (Polytron, MR-2100) durante três minutos, sonicadas (Ultrasonic cleaner, Unique, São Paulo, Brasil) durante 30 minutos em banho de gelo, agitadas a 38°C durante 60 minutos a 150 RPM, filtrados (papel Whatman N°1), evaporadas até 40 ml e alíquotadas. Os extratos foram armazenados em biofreezer a -80°C até o uso.

3.3. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS (FT)

A determinação de FT foi realizada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu descrito por ROESLER *et al.*, (2007). Os extratos foram diluídos em metanol (PA, LabSynth), sonicado (Ultrasonic cleaner, Unique, São Paulo, Brasil),

durante duas horas. A reação ocorreu pela mistura de 0,5 mL de extrato, 2,5 mL de Folin Ciocalteu (10%) e 2,0 mL de carbonato de sódio (7,5%). A mistura foi incubada por 5 minutos a 48°C, e a absorbância a 760 nm foi medida usando um espectrofotômetro de cubetas (Beckman Coulter tm, USA D.U. 640). A curva de calibração externa foi construída com padrão de ácido gálico (10-100 mg/mL) e os resultados foram expressos em mg ácido gálico equivalente (AGE) por g de fruta liofilizada (FL).

3.4. DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS (FLT)

O conteúdo de flavonoides (FLT) foi avaliado através de ensaio colorimétrico desenvolvido por ZHISHEN *et al.*, (1999), com modificações. Os extratos de jaca e araticum foram diluídos em água destilada sendo 1,27 mL de extrato diluído e cinco mL de água destilada homogeneizados e 300 µL de NaNO₂ (5%) foi adicionado. Depois de 5 minutos, 300 µL de AlCl₃ (10%) adicionado. Após 6 min, dois mL de NaOH (1 M) também foi adicionado à mistura. Imediatamente, os extratos foram diluídos com a adição de 2,4 mL de H₂O e homogeneizados. A absorbância da mistura foi medida a 510 nm (New Star fluorometer, Labtechnologies BMG). O branco da reação teve a mesma sequência de eventos que as amostras, porém foi adicionado água no instante da adição dos extratos. Uma curva de calibração foi construída com padrão de catequina (10-175 µg / mL) e FLT foi expresso em mg de catequina equivalente (CE) por g FL.

3.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA)

3.5.1. TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY (TEAC)

A atividade antioxidante foi medida pelo método descrito por LE *et al.*, (2007). Resumidamente, o cátion radical ABTS' (2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate, Sigma) foi preparado de 12 a 16 horas antes do ensaio. A produção do radical ocorreu por mistura de uma solução aquosa de 7 mM de ABTS em 140 mM de persulfato de potássio. O radical foi diluído em água até que a absorbância atingisse o valor de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm. Os extratos foram dissolvidos em água deionizada. A leitura foi realizada em

espectrofotômetro com leitor de microplacas (New Star fluorometer, Labtechnologies BMG) adicionando 50 µL de amostra / Trolox e 250 µl de radical ABTS'. Uma curva de calibração foi construída com padrão Trolox (10-250 µg/mL) e os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente (TE) por g FL.

3.5.2. OXYGEN RADICAL ABSORBANCE CAPACITY (ORAC)

O ensaio ORAC foi determinado pelo método descrito por LEITE-LEGATTI *et al.*, (2012).

O experimento foi realizado em leitor de fluorescência (New Star fluorometer, Labtechnologies BMG). A leitura ocorreu a cada um minuto, durante 80 minutos com emissão a 520 nm e excitação a 485 nm e temperatura controlada a 37°C.

20 µL de cada extrato, sendo o extrato bruto, digerido gástrico, intestinal e fermentado, foram diluídos em tampão fosfato de potássio (pH 7,4, 75 mM) e adicionado em microplaca preta, adicionado de 120 µL fluoresceína (0,4 mg/mL) e 60 µL de radical AAPH (2,2'-azobis 2 –methylpropionamidine, dihydrochloride, Aldrich) na concentração de 108 mg/mL. A área sob a curva (*area under the curve* - *AUC*) foi calculada usando a seguinte equação:

$$AUC = 1 + \frac{f2}{f1} + \frac{f3}{f1} + \frac{f4}{f1} + \frac{fn}{f1}$$

Onde: $f1$ = leitura da fluorescência em um minuto, $f2$ = leitura da fluorescência em dois minutos e fn = leitura da fluorescência no tempo n . O branco da reação teve a mesma sequência de eventos que as amostras, porém foi adicionado água no instante da adição dos extratos.

A curva de calibração foi construída com padrão Trolox (25-700 µg/mL) e os resultados foram expressos em µmol Trolox equivalente (TE) por g FL.

3.6. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS

A identificação e a quantificação dos monossacarídeos e oligossacarídeos presentes nas frutas foram realizadas através de cromatografia de íons acoplada ao detector amperiométrico pulsado (HPAEC-PAD), com a coluna Carbopac PA1 (para mono e dissacarídeos) e a coluna Carbopac PA100 (para oligossacarídeos) a 30 °C, volume de injeção de 25 µL, fluxo de um mL por minuto, usando a bomba Single Grad Degas e o software de Automação Cromatográfica Chromeleon 7.0 CHM-1, da Dionex (USA).

O gradiente desenvolvido para a separação e eluição dos carboidratos na coluna PA1 ocorreu entre duas soluções, sendo a solução A (0,2 M de hidróxido de sódio) e a C (água deionizada). Outra solução foi utilizada para a etapa de limpeza da coluna, solução D (0,2 M de hidróxido de sódio e 1 M de acetato de sódio). Iniciou-se o aclave em 40% de solução A até 30 minutos. Neste momento foi adicionado 5 minutos de etapa de limpeza da coluna (solução D) e posterior estabilização da coluna.

O gradiente desenvolvido para a separação e eluição dos oligossacarídeos na coluna PA100 ocorreu entre duas soluções, sendo a solução A (0,1 M de hidróxido de sódio) e a D (0,1 M de hidróxido de sódio e 0,5 M de acetato de sódio). Iniciou-se com processo isocrático em 97% de solução A e 3% de solução D até 5 minutos para que os mono e dissacarídeos não influenciassem na separação dos oligossacarídeos. A partir do tempo de 5 minutos iniciou-se um aclave com 40% da solução D até 25 minutos. Foi adicionada uma etapa de limpeza da coluna de 5 minutos com 100% da solução D, seguida de 5 minutos de estabilização da coluna.

Os extratos foram diluídos na proporção 1:25 para análise de fruto-oligossacarídeos e malto-oligossacarídeos e 1:500 para análise de mono e dissacarídeos em água deionizada e posteriormente filtradas (Merck Millipore de 0,22 µm).

Foram utilizados padrões de glicose, frutose e sacarose da marca Sigma, de fruto-oligossacarídeos: kestose (GF2), nistose (GF3) e frutofuranosil-nistose (GF4) da *Wako Pure Chemicals* e malto-oligossacarídeos: maltotriose (G₃),

maltotetraose (G₄), maltopentose (G₅), maltohexose (G₆) e maltoheptaose (G₇) da marca Sigma.

3.7. DIGESTÃO GASTRINTESTINAL *IN VITRO*

3.7.1. DIGESTÃO GÁSTRICA *IN VITRO*

Baseado no método descrito por FALLER *et al.*, (2012), com poucas modificações, as triplicatas dos extratos brutos foram utilizadas. Um mL de extrato bruto de araticum (500 mg/mL) e jaca (502 mg/mL) foram misturados numa solução salina contendo 140 mM de NaCl, 5 mM de KCl e BHT a 150 mM numa proporção de 1:4 v / v (amostra / solução salina). Seguiu-se agitando a 21 °C por 10 minutos. Depois, a mistura foi acidificada a pH 2,0 com soluções 0,1 M e 1 M de HCl e foi adicionado a uma solução de 0,125 mL contendo pepsina (0,2 g em 5 mL de HCl 0,1 M) e as amostras foram incubadas a 37 °C com agitação durante 1 hora. Mil e quinhentos microlitros dessa etapa foi alíquotada e armazenada para posteriores experimentos. Esta, não passou pelo processo de neutralização de amostra. Posteriormente, as amostras foram analisadas através dos métodos descritos em 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6.

Em paralelo as amostras, foram realizados brancos que ao invés da amostra apresentava quantidades conhecidas de glicose (100 mg), frutose (100 mg) e sacarose (200 mg) em 10 mL de água deionizada. Estes brancos foram realizados em triplicata com e sem adição de enzima.

3.7.2. DIGESTÃO INTESTINAL *IN VITRO*

Após a digestão gástrica, iniciou-se a digestão intestinal, também baseada no método descrito por FALLER *et al.*, (2012), com alteração do pH para 6,9 por meio da adição de soluções 0,1 M e 1 M de NaHCO₃. Em seguida adicionou-se 0,625 mL de solução de pancreatina e bile (contendo 0,225 g de extrato de bile e 0,0375 g de pancreatina, em um volume de 18,75 mL de 0,1 M de NaHCO₃), seguido por incubação com agitação a 37 °C durante 2 horas. O volume final da amostra digerida foi ajustado para 7 mL pela adição de solução salina. O pH das

amostras foram ajustados para 7. As amostras foram filtradas e analisadas mais uma vez através dos métodos descritos em 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6.

O branco da etapa gástrica também sofreu esta etapa de digestão intestinal. Esses brancos foram realizados em triplicata com e sem adição de enzima.

3.8. FERMENTAÇÃO COLÔNICA *IN VITRO*

A fermentação colônica foi descrita previamente por KARPPINEN *et al.*, (2000), com modificações. Os extratos digeridos foram usados nas concentrações de 99 mg/mL e 96 mg/mL (jaca e araticum, respectivamente). Linhagens probióticas (*Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus acidophilus* LA – 5 e *Bifidobacterium lactis* BB-12) foram cedidas gentilmente pela CHR Hansen (Valinhos, São Paulo, Brasil).

3.8.1. AVALIAÇÃO DAS LINHAGENS

A avaliação das linhagens foi realizada através de uma diluição seriada (10^{-1} a 10^{-10}) de cada micro-organismo probiótico. Retirou-se uma alíquota equivalente a um mL dessas diluições e colocou-se em placas de Petri, seguidas de 10 mL de ágar MRS a 40 °C para o plaqueamento *pour plate*. Essas semeaduras foram realizadas em duplicatas e incubadas a 37 °C durante 72 h e as placas foram invertidas. A contagem foi realizada sendo selecionadas as placas com contagem entre 30 e 250 unidades formadoras de colônias (UFC). Este procedimento foi realizado para garantir a eficiência das linhagens (GONZÁLES-FERNÁNDEZ 35T *al.*, 1997).

3.8.2. PREPARO DO INÓCULO

O inóculo foi preparado com linhagens probióticas liofilizadas (*Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus acidophilus* LA – 5 e *Bifidobacterium lactis* BB-12. A ativação foi feita em caldo Man Rogosa e Sharpe – MRS (Acumedia, Neogen, Michigan) adicionando glicose e lactose (5%) (Synth, São Paulo, Brazil) e

incubado a 37°C por 24 h e 50 rpm (*water bath shaker, New Brunswick Scientific, New Jersey, USA*).

A contagem de viabilidade das células foi realizada usando diluição seriada. Depois de realizada a diluição seriada (10^{-1} a 10^{-10}) com água destilada estéril, a turbidimetria foi aferida em espectrofotômetro com leitor de microplacas (*New Star fluorometer, Labtechnologies BMG*) adicionando 300 µL de inóculo e lido em 540 nm. A diluição que representou o valor de 0,5 (com referência na escala de McFarland's – Figura 08) foi utilizada como inóculo.

ESCALA DE MCFARLAND											
Absorbância	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0
Número aproximado de bactérias/mLx10 ⁸	1,5	3,0	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0	24,0	27,0	30,0

Figura 08: Escala de McFarland

3.8.3. FERMENTAÇÃO COLÔNICA *IN VITRO*

A fermentação ocorreu em duplicata. Cinco mL de cada extrato (jaca e araticum) que já tinham sido submetidos ao processo de digestão *in vitro* foram descongeladas e o pH foi ajustado para 7. Após, foram filtradas (0,22 µm Millipore, Merck) em ambiente estéril para posterior incubação.

Um mililitro de inóculo, previamente reservado, foi adicionado aos tubos contendo cinco mL de extrato estéril e foram tampados e incubados a 37°C durante 48 horas a 50 RPM, sob condições anaeróbias (Anaerocult, Merck). 300 µL de cada tubo foram aliquotados, para a leitura da absorbância, 540 nm, a tempo zero. Um volume semelhante de extrato e sem qualquer inóculo adicionado foi incubado simultaneamente como branco.

Após as 48h, foram aliquotados 300 µL dos tubos para realização da leitura de turbidimetria a 540 nm, para avaliar o crescimento celular. O pH foi ajustado a 7 e os extratos foram filtrados para remoção das células viáveis. Posteriormente as amostras foram imediatamente armazenadas a -18°C e depois

analisadas pelos métodos 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6. Em paralelo foi realizado o branco da fermentação utilizando o branco da etapa anterior. Um modelo ilustrado e resumido do processo utilizado neste trabalho se encontra abaixo (Figura 09).



Figura 09: Esquema do processo de extração, digestão e fermentação utilizado.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são apresentados com a média \pm desvio padrão de três repetições de cada experimento. Um valor $p < 0,05$ foi utilizado para indicar diferenças significativas entre os valores médios determinados por análise de variância (ANOVA) seguida por teste de *Tukey*, em caso de diferença significativa, utilizando Statistica 12,0 (*StatSoft, Inc.*, 2013).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente estudo, o efeito *in vitro* da digestão gastrointestinal e da fermentação colônica sobre compostos fenólicos, AA e o perfil de carboidratos foram avaliados em extratos de jaca e araticum.

As Tabelas 04 e 05 mostra as etapas utilizadas neste trabalho e o perfil de fenóis totais, flavonoides totais e as atividades antioxidantes das frutas utilizadas.

Tabela 04: Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de extrato bruto de jaca nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	JACA			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
Fenóis totais ¹	0,120 \pm 0,004 ^a	0,100 \pm 0,001 ^b	0,090 \pm 0,001 ^b	0,090 \pm 0,002 ^b
Flavonoides totais ²	0,210 \pm 0,003 ^c	0,070 \pm 0,008 ^d	0,430 \pm 0,003 ^a	0,280 \pm 0,007 ^b
TEAC ³	0,700 \pm 0,006 ^b	1,330 \pm 0,400 ^{ab}	1,930 \pm 0,007 ^a	1,500 \pm 0,300 ^a
ORAC ⁴	13,000 \pm 3,000 ^b	14,000 \pm 1,000 ^b	14,000 \pm 1,000 ^b	37,000 \pm 1,000 ^a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). ¹FT foi expresso em mg AGE por g FL; ²FLT foi expresso em mg CE por g FL; ⁴TEAC foi expresso em μ mol TE por g FL e ⁵ORAC foi expresso em μ mol TE por g FL.

Tabela 05: Fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante de extrato bruto de araticum nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	ARATICUM			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
Fenóis totais ¹	2,20± 0,16 ^a	1,70±0,18 ^b	2,50±0,27 ^a	1,50±0,20 ^b
Flavonoides totais ²	4,85±0,56 ^a	6,00±0,04 ^a	5,60±0,72 ^a	3,16±0,17 ^b
TEAC ³	5,47±0,33 ^b	23,00±2,70 ^a	22,00±1,20 ^a	9,30±0,50 ^b
ORAC ⁴	581,00±22,00 ^a	345,00±7,50 ^b	348,00±3,00 ^b	207,00±18,00 ^c

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). ¹FT foi expresso em mg AGE por g FL; ²FLT foi expresso em mg CE por g FL; ⁴TEAC foi expresso em $\mu\text{mol TE}$ por g FL e ⁵ORAC foi expresso em $\mu\text{mol TE}$ por g FL.

5.1. FENÓIS TOTAIS

Fenóis totais é um ensaio que permite a avaliação de compostos fenólicos no conteúdo de uma amostra. Entretanto, a composição da amostra pode interferir neste ensaio, como exemplo, carboidratos presentes nas amostras podem ocasionar a formação de enedióis em meio alcalino (FURLONG *et al.*, 2003).

A quantificação de fenóis totais dos extratos bruto, do processo digestivo e fermentativo foi realizada através do método de Folin Ciocalteau e foi construída uma curva externa de calibração que apresentou $R^2 = 0,9957$, com equação $y = 0,0109x - 0,0551$.

Dentre as frutas estudadas, o extrato bruto de araticum foi que apresentou maior teor de FT, com 2,2 mg de AGE por g de FL. Este foi o primeiro trabalho que avaliou a concentração de FT nesta espécie de araticum.

Comparando os dados de outras variedades já descritos previamente na literatura, analisados por JULIÁN-LOAEZA *et al.*, (2011), a variedade A.

diversifolia apresentou maior concentração de FT em peso fresco, quando comparado ao araticum aqui estudado. Outro estudo, realizado com *A. crassiflora*, apresentou 31 mg de AGE por g de peso seco com extração etanólica e 17 mg de AGE por g de peso seco para a extração aquosa (ROESLER *et al.*, 2006). LOIZZO *et al.*, (2012) analisaram *A. cherimola* e observou valores menores, com concentração de FT em 1,2 mg de AGE por g de peso fresco.

Entretanto, o extrato de jaca bruto apresentou concentração menor quando comparado ao araticum, com teor de $0,12 \pm 0,004$ mg de AGE por g de FL. JAGTAP *et al.*, (2010) mostraram uma maior concentração na análise de FT na mesma variedade de jaca, que na extração aquosa apresentou concentração de 0,25 mg AGE por g de fruta seca e na extração etanólica mostrou maior concentração com 0,46 mg de AGE por g de fruta seca. FU *et al.*, (2011) analisaram a mesma espécie de jaca e apresentou 0,6 mg de AGE por g de fruta fresca e levando em consideração que esta fruta após a secagem apresentou 1:3 (peso seco: fruta fresca), a concentração de FT está de acordo com os trabalhos analisados.

Assim sendo, observam-se vários dados na literatura a respeito do teor de compostos fenólicos em extratos de frutas. No entanto, dados que tenham relevância sobre os efeitos da digestão após a ingestão dos compostos fenólicos são escassos, do mesmo modo sobre o efeito da fermentação colônica perante esses compostos.

O processo de digestão parece afetar diretamente a composição dos extratos dependendo das condições fisiológicas e a sequência de eventos no trato gastrointestinal. Assim, em um esforço para lidar com esses fatores, este estudo demonstrou que, após a digestão gástrica *in vitro*, o conteúdo de FT dos extratos de araticum e jaca diminuiu significativamente ($p < 0,05$).

Extratos de jaca e araticum apresentaram mesmo comportamento no conteúdo de FT após a digestão gástrica *in vitro*. Os extratos mostraram redução

significativa ($p < 0,05$), que se pareceu com o que foi relatado por BOUAYED *et al.*, (2011) na análise de diferentes variedades de maçãs.

FRIEDMAN & JURGENS (2000) também escreveram sobre a redução em FT. Concluíram que esta redução pode estar ligada à instabilidade dos compostos fenólicos em diferentes pH's. Especularam e comprovaram que as moléculas mais complexas são mais estáveis, mas quando são hidrolisadas, podem perder a estabilidade.

Houve redução significativa ($p < 0,05$) no extrato de jaca após a digestão gástrica, apresentando valores de $0,12 \pm 0,004$, $0,1 \pm 0,001$ g AGE por g FL (extrato bruto, digestão gástrica, respectivamente).

A quantificação de FT do extrato de araticum bruto mostrou $2,2 \pm 0,16$ mg AGE por g FL. Após o processo de digestão gástrica o extrato apresentou redução em FT, com diferença significativa ($p < 0,05$) de valor $1,7 \pm 0,18$ mg AGE por g FL. Posteriormente, na etapa de digestão intestinal apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) com valor de $2,5 \pm 0,27$ mg AGE por g FL, que após ser fermentado mostrou diferença significativa com redução de FT, sendo $1,5 \pm 0,2$ mg AGE por g FL.

Diferente do comportamento do extrato de jaca, o extrato de araticum apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) em FT na etapa de digestão intestinal. Este resultado está de acordo com o que foi demonstrado por BHATT & PATEL (2013), que indagaram que o aumento em FT está associado à liberação gradual de compostos fenólicos durante o processo digestivo no intestino. Este aumento pode ter ocorrido com a liberação de agliconas durante a digestão intestinal.

Um estudo realizado com chás, verde e preto, revelou que diferentes fenóis apresentam diferentes comportamentos perante a digestão. Quando submetido a digestão gástrica e intestinal o chá verde e o chá preto apresentaram estabilidade na quantificação de ácido gálico. Entretanto, a quantificação do flavanol epigallocatequina galato mostrou redução em ambos os extratos durante ambas as

fases de digestão. Outro flavonoide, a galocatequina galato apresentou aumento e posterior redução durante as fases da digestão (RECORD & LANE, 2001). Isso mostra que a redução ou aumento em FT varia de acordo com a composição dos fenóis nas amostras e nos diferentes efeitos de matrix, além da variação de estabilidade em pH's distintos (BETANZO, 2013).

5.2. FLAVONOIDES

A quantificação de flavonoides totais, Tabelas 04 e 05, dos extratos bruto, do processo digestivo e fermentativo foi realizada através do método de ZHISHEN *et al.*, (1999) e foi construída uma curva externa de calibração que apresentou $R^2 = 0,9955$ e equação $y = 0,0021x - 0,0031$.

Analizando os extratos brutos, o extrato que apresentou maior concentração de flavonoides foi o extrato de araticum, com concentração de 4,85 mg de CE por g de FL. JULIÁN-LOAEZA *et al.*, (2011) analisaram a concentração de FLT em outra variedade, *A. diversifolia*, e obteve 1,33 mg de CE por g peso fresco; LOIZZO *et al.*, (2012) ao analisarem *A. cherimola* quantificaram 0,38 mg por g de peso fresco.

O extrato bruto de jaca, assim como ocorreu em FT, mostrou menores concentrações para flavonoides quando comparado ao araticum. Este extrato apresentou teor de 0,21 mg de CE por g de FL. Numa extração aquosa, SHANMUGAPRIYA *et al.*, (2011) observaram 0,85 mg de quercetina equivalente por g de extrato da mesma variedade. JAGTAP *et al.*, (2010) avaliaram a concentração de flavonoides em diferentes extrações e quantificaram 0,23 mg de rutina equivalente por g de amostra. Estes e outros estudos apresentaram maiores concentrações de flavonoides para extrações aquosas.

O conhecimento do efeito da digestão sobre os FLT é ainda mais intrigante quando comparados aos FT, uma vez que são compostos com maiores estruturas e por este motivo, com maior diversidade de ligações entre outras substâncias.

Desse modo, a digestão causa grande modificação na composição dos flavonoides e os alimentos que os contenham (FLAMBÓ, 2013).

A concentração de FLT de jaca apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em todas as etapas do processo digestivo e fermentativo. O extrato bruto com $0,21 \pm 0,03$ mg CE por g FL foi reduzido significativamente ($p < 0,05$) a $0,07 \pm 0,008$ mg CE por g FL após passar pela etapa da digestão gástrica e na etapa posterior de digestão intestinal aumentou significativamente ($p < 0,05$) com valor de $0,43 \pm 0,003$ mg CE por g FL. O processo de fermentação colônica de extrato de jaca apresentou redução significativa ($p < 0,05$) com concentração de $0,28 \pm 0,007$ mg CE por g FL.

Esta redução após o processo de digestão gástrica pode estar relacionada com o pH da amostra, já que nesta etapa não foi realizada a neutralização e o extrato se manteve no mesmo pH que ocorreu o processo de digestão gástrica (FRIEDMAN & JURGENS, 2000).

Na digestão intestinal, com a redução da acidez na amostra há um aumento na concentração de FLT, o que pode estar associado à conversão de glicosídeos em agliconas, como apresentado por GOH & BARLOW (2004) que ao analisar folhas e cápsulas de *Ginkgo biloba* observaram o aumento da disponibilidade de agliconas e a posterior degradação de FLT nas amostras. Também, pode estar diretamente relacionado à liberação de FLT a partir de novas hidrólises causadas pelas enzimas e pelo pH intestinal, como descrito por BHATT & PATEL (2013). Outra hipótese ainda é a baixa estabilidade dos FLT em meio ácido (HARBORNE & WILLIAMS, 2000; REIS NUNES *et al.*, 2012).

A redução significativa de FLT em extrato de jaca após a fermentação colônica pode ter sido consequência da biotransformação da estrutura, o que poderia alterar sua atividade biológica (RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014; ANTUNES, 2012) após a liberação da aglicona no processo anterior, assim como apresentado por BHATT & PATEL (2013).

Segundo LANDETE (2012), os compostos fenólicos podem apresentar um tipo de efeito prebiótico durante a fermentação colônica *in vitro*. Apesar desse efeito não ter sido bem delineado em nenhum estudo, alguns avaliaram a administração de compostos fenólicos em ensaios *in vivo* e observaram redução de substâncias putrefativas, o aumento de ácidos orgânicos e a redução do pH intestinal.

O mesmo comportamento de concentração de FLT no extrato bruto de araticum e extrato digerido intestinal foi observado por ANTUNES (2012) quando analisou flavonoides em flor de laranjeira.

O comportamento de flavonoides do extrato de araticum apresentou redução significativa ($p < 0,05$) apenas no processo de fermentação, com valores de $5,6 \pm 0,72$ e $3,16 \pm 0,17$ mg CE por g FL (digestão intestinal e fermentação colônica, respectivamente).

Diferente do comportamento dos FLT no extrato de jaca, os FLT que compõe a extrato de araticum podem ser mais estáveis ao processo de digestão e posteriormente serem fermentados pelas bactérias colônicas. Essa permanência dos FLT após a digestão pode estar relacionado com as ligações interglicosídicas do tipo β entre carboidratos e agliconas, que não pode ser hidrolisada pelas enzimas gastrintestinais, melhorando a microflora. (RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014; HEIM *et al.*, (2002).

A fermentação colônica induz o desmembramento das ligações interflavonoides e do anel C resultando em diversos efeitos sobre a saúde, como a redução do pH intestinal, a melhora da absorção de minerais (SCHARRER & LUTZ, 1990), o melhoramento do sistema imune (SAAD, 2006), resistência à colonização (VAN DER WAAIJ *et al.*, 1971) entre outros efeitos. Isso se deve ao fato de que os carboidratos e compostos fenólicos que atingem essa etapa do processo de digestão são convertidos em ácidos graxos de cadeia curta que compreendem esses efeitos. (RODRIGUEZ-MATEOS *et al.*, 2014). Acetato,

propionato e butirato são os metabólitos formados mais citados pela literatura (ATOBE, 2003).

Além disso, algumas enzimas, produzidas durante o processo de fermentação por bactérias lácticas, são capazes de clivar ligações em flavonoides, e estão descritas na Tabela 06.

Desta forma, a produção de enzimas pode ter influenciada na redução de FLT após o processo fermentativo de ambas as frutas. Isso se deve ao fato de que as bactérias aqui utilizadas tem a capacidade de produzir enzimas, como exemplo, o *Lactobacillus casei* que pode utilizar como substrato a glicosil-isoflavonas e faz a bioconversão em isoflavonas agliconas (DE AGUIAR *et al.*, 2007). Outro estudo indicou que cepas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* têm efeito hipocolesterolêmico, pois são capazes de produzir hidrolases de sais biliares, que são responsáveis por desconjugar ácidos biliares influenciando na absorção de colesterol no intestino (MANZONI *et al.*, 2009).

Tabela 06: Enzimas com ação em flavonoides.

ENZIMAS	MOLÉCULA LIGADA AO FLAVONOIDE
β-glicoronidase	Carboidrato
β-galacturonidase	Carboidrato
Hialuronidase	Carboidrato
Fosfatase alcalina	Anel fenil
Arilsulfatase	Anel fenil ou anel benzopirona
Decarboxilase	Anel fenil
Lipase	Fenol (quelar Me ²⁻)
ATPases	anel benzopirona
Catecol-σ-metiltransferase	Anel fenil

Fonte: Adaptado de HAVSTEEN (1983).

5.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A AA foi medida através de dois métodos: o TEAC e ORAC, cujos resultados são mostrados abaixo.

5.3.1. TEAC

TEAC é um método amplamente utilizado pela facilidade de realização dos procedimentos, baixo custo da análise e foi um dos escolhidos neste estudo pelo contraste de cor com as amostras facilitando a realização dos ensaios. Resumidamente, o cátion radical ABTS' (2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) é formado pela mistura de ABTS' com persulfato de potássio (Figura 10), que interage com a amostra ou padrão e a AA é dada pela neutralização do radical cátion ABTS'⁺ (MALTA, 2011).

A porcentagem de inibição, ao qual é calculada para verificar AA das amostras, foi utilizada para verificação dos extratos brutos, do processo digestivo e fermentativo (LE *et al.*, 2007) e foi construída uma curva de calibração externa que apresentou $R^2 = 0,9934$ e equação $y = 2,8084x + 1,1722$.

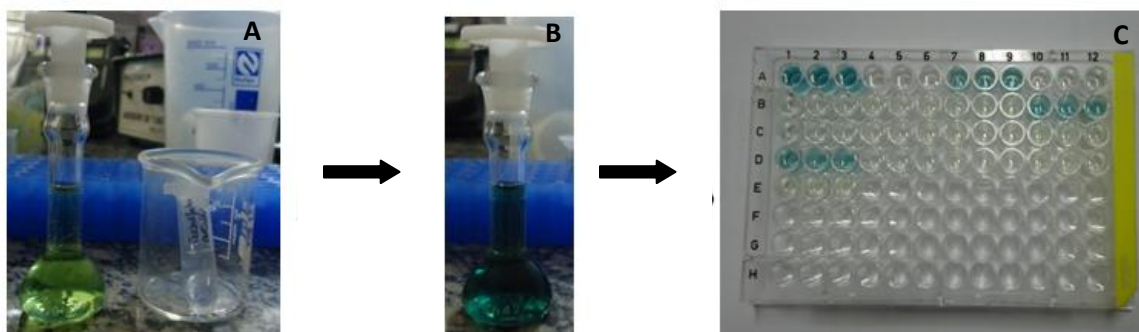


Figura 10: Representação do método de TEAC, onde (A) ABTS' e persulfato de potássio preparados, (B) Radical ABTS'⁺ e (C) placa de leitura da amostra araticum DG.

A AA do extrato de araticum, pelo método de TEAC mostrou aumento significativo ($p < 0,05$) do extrato bruto para o extrato gástrico, passando de

5,47±0,33 para 23±2,7 µmol TE por g FL, e sofreu redução significativa ($p < 0,05$) após a fermentação colônica passando de 22±1,2 para 9,3±0,5 µmol TE por g FL.

Esse aumento na AA por TEAC na digestão gástrica pode ocorrer devido à variação do pH do meio, já que é de conhecimento que os compostos fenólicos tem diferentes pH de estabilidade. Antocianinas, por exemplo, são estáveis em pH ácido (SANCHO & PASTORE, 2012). Outros flavonoides, como a catequina, são muito instáveis em meio alcalino e também se tornam mais estáveis quando em ambiente ácido. Um estudo avaliou a concentração de compostos fenólicos em chá verde e mostrou que em meio neutro (7,4) por um determinado tempo, a concentração desses compostos diminuíram, assim como a AA (RECORD & LANE, 2001).

Apesar de FT e FLT das amostras de jaca e araticum não apresentarem aumento podemos supor que a matriz obtida a partir dos extratos de jaca e araticum, contém outras substâncias que não foram analisados neste estudo, incluindo substâncias não-fenólicas envolvidas no aumento da AA após o processo de digestão gástrica *in vitro*. Estes compostos, tais como aminoácidos e peptídeos podem ter sido liberados durante a digestão ou tiveram suas estruturas alteradas, o que pode ter afetado a captura de radicais devido ao aumento da AA dos extratos pelo método de TEAC (CASTRO & SATO, 2013). Outras associações podem ser feitas com base na perda de compostos voláteis, uma vez que possuem propriedades antioxidantes (LEE & SHIBAMOTO, 2001).

Não houve diferença estatística entre os processos de digestão para a AA pelo método de TEAC, porém um aumento na AA por esse método antioxidante em relação ao extrato bruto de jaca só foi observado após a digestão intestinal. Isso pode ser explicado pela hidrólise enzimática ou modificação da estrutura causada pelo pH nos glicosídeos, liberando agliconas. Este aumento na AA do extrato de jaca pode estar diretamente relacionado ao FLT, já que obteve um aumento significativo ($p < 0,05$) após passar pela digestão intestinal, onde ocorre

a hidrólise de carboidratos, pela adição da solução de bile e pancreatina e aumento do pH para 6,9 (Figura 11).

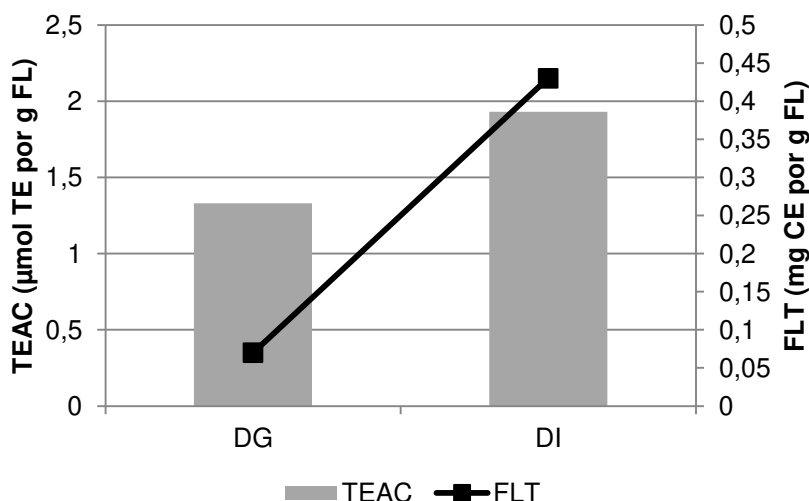


Figura 11: Comportamento de FLT e TEAC após a digestão gástrica (DG) e digestão intestinal (DI) de extrato de jaca.

Alguns estudos relataram aumento de FT em extratos de cravo, noz-moscada e alho após sofrerem o processo de digestão e também mostraram o aumento da AA em TEAC (BAKER *et al.*, 2013; BHATT & PATEL, 2013). Ambos os estudos sugeriram que o aumento da AA pode estar associado à liberação gradual de compostos fenólicos durante o processo digestivo alterando a estrutura desses compostos, o que afetaria diretamente suas propriedades funcionais e químicas. Apesar dos dados deste estudo não apresentarem aumento de FT ao longo etapas digestivas para o extrato de jaca, os FLT, após sofrerem a digestão intestinal, apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) e posteriormente um aumento na AA pelo método de TEAC.

O aumento de TEAC no extrato gástrico de araticum pode não estar diretamente relacionado com o aumento de FT, já que há redução na digestão gástrica e posterior aumento na digestão intestinal. Isso também pode estar relacionado à hidrólise de glicosídeos nesta etapa, mas a AA pelo método de

TEAC mostrou que as fases de digestão são estatisticamente iguais ($p < 0,05$). Esse discreto aumento de flavonoides pode ter interferido na AA por TEAC, entretanto, se fazem necessários outros estudos.

Apesar do extrato de araticum não demonstrar diferença estatística do extrato bruto ao digerido intestinal em FLT, um recente estudo explica o aumento de TEAC. HUR *et al.*, (2014) analisaram diversos estudos e concluíram que a AA de compostos fenólicos pode estar diretamente relacionada à capacidade de doar próton e não apenas da posição do grupo hidroxila.

5.3.2. ORAC

Métodos químicos e simplificados são necessários para uma rápida avaliação das amostras em relação aos compostos antioxidantes presentes nessas matrizes e neste âmbito de aplicação encontra-se o ORAC. Porém, os processos analíticos têm se desenvolvido e assim surgiu o ORAC. Este ensaio mede a atividade antioxidante de substâncias contra radicais peroxila induzida pelo AAPH (*2'-azobis 2-methylpropionamidine, dihydrochloride*) a 37 °C, durante oitenta minutos, o que apresenta um perfil biologicamente mais relevante da AA de uma amostra. O decaimento da fluorescência indica a avaria causada com o radical peroxila e por esse decaimento é realizado o cálculo da AUC com a posterior subtração do branco (OU *et al.*, 2001).

Os extratos de jaca e araticum foram avaliados por este método e cada placa obteve uma curva de calibração.

Um diferente comportamento quando comparado ao método de TEAC foi observado no método ORAC. O extrato de araticum demonstrou redução significativa ($p < 0,05$) em três das etapas realizadas, sendo 581 ± 22 , $345 \pm 7,5$, 207 ± 18 $\mu\text{mol TE por g FL}$ (extrato bruto, digestão gástrica e fermentação colônica, respectivamente).

Essa redução percebida no extrato de araticum pelo método de ORAC pode estar relacionada ao fato de que os principais compostos bioativos encontrados nesta fruta são alcaloides. Alcaloides são substâncias estáveis em meio básico, que em condições favoráveis apresentam elevada AA, como obtido por PAVAN *et al.*, (2014). Quando em meio ácido os alcaloides se tornam instáveis podendo não apresentar AA elevada. Na Figura 12, podemos observar uma possível precipitação durante a digestão gástrica, conforme observado em alguns experimentos utilizando ácidos para precipitação de alcaloides (ALICE *et al.*, 2004).

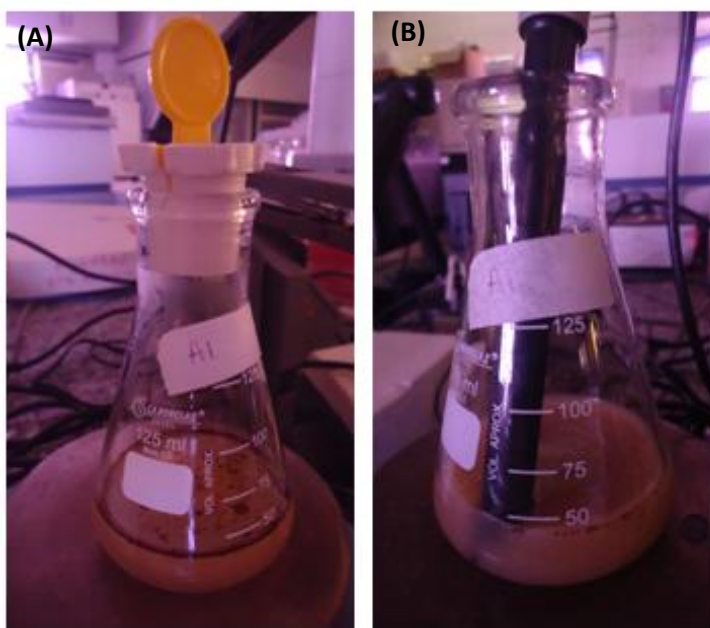


Figura 12: Possível precipitação de alcaloides durante o processo de digestão gástrica. (A) Extrato Bruto e (B) digestão gástrica.

O método ORAC, para o extrato de jaca, também se apresentou diferente de TEAC, mantendo a AA estável até a fermentação, quando obteve um aumento significativo ($p < 0,05$) de 14 ± 1 para 37 ± 1 $\mu\text{mol TE por g FL}$ (digestão intestinal e fermentação colônica, respectivamente).

O aumento notado em ORAC no extrato de jaca após ter sido fermentado pode estar relacionado com substâncias produzidas pelas bactérias ácido lácticas

(BAL), que podem refletir diretamente na AA. MARAZZA *et al.*, (2009) discutiram sobre a capacidade de diversas BAL terem atividade de β -glicosidase durante a fermentação da soja e entre elas estão as bactérias utilizadas neste estudo: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*. Na fermentação à base de soja, a β -glicosidase agiu sobre isoflavonas através de biotransformação destas em agliconas, o que afetou direta e positivamente a AA aumentando-a. Entretanto, é importante notar que, cada linhagem tem uma capacidade diferente de produção de enzima e a matriz utilizada neste estudo não foi a mesma.

Algumas BAL também influenciam na AA pela capacidade das cepas de produzir elevadas concentrações de aminoácidos (VIRTANEN *et al.*, 2007). Aminoácidos possuem a capacidade de doar elétrons, caracterizando-os como potentes antioxidantes, assim como alguns aminoácidos ligados a compostos aromáticos (CODA *et al.*, 2012; HUR *et al.*, 2014).

Isso também poderia explicar o aumento significativo ($p < 0,05$) da AA pelo método de ORAC no extrato fermentado de jaca. Apesar das amostras terem sofrido processo de filtração para a retirada das células, os aminoácidos poderiam ter sido liberados no meio (CODA *et al.*, 2012; HUR *et al.*, 2014).

É certo que a diminuição da AA dos extratos, após a digestão e fermentação de alimentos ricos em compostos fenólicos, como observado no extrato de araticum, está diretamente relacionada ao conteúdo dessas substâncias, a menos que a substância majoritária do alimento que produz essa AA não sejam compostos fenólicos (HUR *et al.*, 2014).

Outro aspecto relevante é que o aumento da AA também pode estar relacionada com o pH e interações enzimáticas que ocorrem durante a digestão *in vitro*. Outras investigações são necessárias para diferenciar os efeitos do ambiente sobre as enzimas da digestão em relação à FT (BAKER *et al.*, 2013). Outro fator considerável é a mudança de pH durante a fermentação e, em consequência, a hidrólise e liberação de diversas substâncias que podem

influenciar na AA alterando o conteúdo e a estrutura dos FT e FLT (HUR *et al.*, 2014).

Alguns estudos sugerem que as concentrações de FT, FLT e a AA de extratos químicos à base de plantas, frutas, vegetais e outros pode ser subestimada, pois os solventes utilizados na extração podem não ser eficazes na extração completa de compostos fenólicos (GONI *et al.*, 2006; BHATT & PATEL, 2013). Além disso, outros fatores, como a maturidade, fatores ambientais, processamento e armazenamento, podem afetar o teor de compostos fenólicos de frutas (MANACH *et al.*, 2004).

Outro aspecto relevante a ser considerado é que os carotenóides de jaca, embora não tenham sido avaliadas, podem apresentar AA (RIVERA-PASTRANA *et al.*, 2010; SWAMI *et al.*, 2012). Em seu estudo de digestão gastrointestinal, BREITHAUPT, *et al.*, (2002) determinaram que a esterase colesterol, e não a lipase pancreática (utilizada em nosso estudo) foi responsável pela hidrólise de carotenóides.

5.4. CARBOIDRATOS

Os resultados de carboidratos simples, glicose, frutose e sacarose estudados são expressados nas Tabelas 07 (jaca) e 09 (araticum). Os oligossacarídeos, sendo os fruto-oligossacarídeos e malto-oligossacarídeos são expressados nas Tabelas 08 (jaca) e 10 (araticum).

O mesmo extrato seguido de digestão gástrica, intestinal e fermentação *in vitro* elaborados para as análises de composição de FT, FLT e AA foi utilizado para a análise de carboidratos.

Tabela 07: Identificação e quantificação de carboidratos simples de extrato bruto de jaca nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	JACA			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
Glicose	115,0±5,0 ^a	79±0,2 ^{ab}	116,0±15,0 ^a	56,0±25,0 ^b
Frutose	139,0±5,0 ^a	84,0±5,0 ^b	116,0±15,0 ^a	76,0±7,0 ^b
Sacarose	522,0±18,0 ^a	378,0±10,0 ^c	460,0±26,0 ^b	396,0±18,0 ^c

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). Glicose, frutose e sacarose foram expressos em mg por g de FL.

Tabela 08: Identificação e quantificação de oligossacarídeos de extrato bruto de jaca nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	JACA			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
GF2	2,51±0,05 ^a	2,17±0,01 ^b	2,08±0,07 ^b	2,30±0,22 ^{ab}
GF3	0,04±0,00 ^a	0,01±0,00 ^c	0,01±0,00 ^c	0,03±0,00 ^b
GF4	NI	0,02±0,00 ^a	0,02±0,00 ^b	0,01±0,00 ^a
G3	0,01±0,00 ^c	0,02±0,00 ^b	0,02±0,00 ^b	0,03±0,00 ^a
G4	0,17±0,00 ^a	NI	NI	NI
G5	0,08±0,00 ^c	0,14±0,00 ^b	0,13±0,00 ^b	0,15±0,10 ^a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃), frutofuranosil nistose (GF₄), maltotriose (G3), maltotetraose (G4) e maltopentose (G5) foram expressos em mg por g de FL.

Tabela 09: Identificação e quantificação de carboidratos simples de extrato bruto de araticum nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	ARATICUM			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
Glicose	129±13 ^{ab}	93±5 ^b	168±31 ^a	100±13 ^b
Frutose	157±14 ^a	103±5 ^b	161±26 ^a	111±12 ^b
Sacarose	386±53 ^{ab}	287±10 ^b	410±52 ^a	315±8 ^b

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). Glicose, frutose e sacarose foram expressos em mg por g de FL.

Tabela 10: Identificação e quantificação de oligossacarídeos de extrato bruto de araticum nos processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

	ARATICUM			
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINO	FERMENTAÇÃO COLÔNICA
GF2	2,46±0,20 ^{ab}	2,65±0,00 ^a	2,55±0,02 ^a	2,24±0,10 ^b
GF3	0,35±0,02 ^a	0,17±0,05 ^b	0,13±0,00 ^b	0,15±0,02 ^b
GF4	0,07±0,00 ^{ab}	0,08±0,01 ^a	0,08±0,00 ^a	0,05±0,01 ^b
G3	9,60±0,07 ^a	5,46±0,06 ^c	5,82±0,17 ^b	4,20±0,09 ^d
G4	0,77±0,07 ^a	0,56±0,06 ^b	0,52±0,04 ^b	0,42±0,03 ^b
G7	0,54±0,06 ^a	0,37±0,02 ^b	0,35±0,02 ^{bc}	0,26±0,02 ^c

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). 1-kestose (GF₂), nistose (GF₃), frutofuranosil nistose (GF₄), maltotriose (G3), maltotetraose (G4) e malheptaose (G7) foram expressos em mg por g de FL.

Conforme os dados apresentados nas Tabelas 07 e 09 observa-se quantidade apreciável de carboidratos simples nas amostras, caracterizando-os como compostos majoritários nessas frutas. No extrato de bruto de jaca quantificou-se $115 \pm 5,2$, 139 ± 5 , 522 ± 18 mg de glicose, frutose e sacarose, respectivamente, totalizando 776 mg de carboidratos simples g de FL.

No extrato de araticum bruto foram quantificados 129 ± 13 , 157 ± 14 , 486 ± 53 mg de glicose, frutose e sacarose, respectivamente, por g de FL, totalizando 672 mg de carboidratos simples por g de FL.

ONG *et al.*, (2006) avaliaram o processo de maturação dessa mesma espécie de jaca e observou que a quantidade de sacarose é maior que frutose e glicose nessa fruta, igualmente AZIZUR RAHMAN *et al.*, (1999) que também observaram maiores concentrações de sacarose em algumas das espécies analisadas.

Observando os dados apresentados para o araticum percebemos que houve aumento significativo de glicose ($p < 0,05$) após a digestão intestinal (168 ± 31 mg por g de FL) seguido de redução ($p < 0,05$) após a fermentação (100 ± 12 mg de glicose por g de FL).

O extrato de jaca apresentou comportamento de glicose parecido com o extrato de araticum, entretanto, só houve diferença significativa ($p < 0,05$) com redução na fase de fermentação colônica (116 ± 15 e 56 ± 25 mg de glicose por g de FL, sendo digestão intestinal e fermentação colônica, respectivamente).

Na quantificação de frutose, o extrato de jaca apresentou redução ($p < 0,05$) do bruto para o gástrico, seguido de aumento ($p < 0,05$) e subsequente redução ($p < 0,05$) após a fermentação colônica (139 ± 5 , 84 ± 5 , 116 ± 15 , 76 ± 7 mg de frutose por g de FL, respectivamente).

O extrato de araticum apresentou exatamente o mesmo perfil, de redução após a digestão gástrica, aumento após a digestão intestinal e posterior redução

na fermentação colônica, todos com diferença significativa ($p<0,05$), do extrato de jaca, sendo 157 ± 14 , 103 ± 5 , 161 ± 26 e 111 ± 12 mg de frutose por g de FL.

Para ambos os extratos a concentração de sacarose foi maior que de glicose e até mesmo de frutose, além de seu comportamento durante as fases fisiológicas, gástrica e intestinal, serem parecidos com o apresentado pela glicose. O extrato de jaca mostrou redução significativa ($p<0,05$) da sacarose após sofrer digestão gástrica, com aumento significativo ($p<0,05$) após a digestão intestinal e subsequente redução ($p<0,05$) após a fermentação (522 ± 18 , 378 ± 10 , 460 ± 26 , 396 ± 18 mg de sacarose por g de FL, respectivamente).

No extrato de araticum, a digestão intestinal apresentou aumento significativo na sacarose ($p<0,05$) seguido de redução ($p<0,05$) após ser fermentado (287 ± 10 , 410 ± 52 , 315 ± 8 mg de sacarose por g de FL, sendo digestão gástrica, intestinal e fermentado, respectivamente).

Importantes associações podem ser realizadas na análise dos brancos do processo digestivo. Os dados se encontram na tabela 08.

Tabela 11: Quantificação de carboidratos obtidos pelos brancos da digestão.

	BRANCO - SEM ENZIMA		
	EXTRATO BRUTO	DIGESTÃO GÁSTRICA	DIGESTÃO INTESTINAL
Glicose	105 ± 22^a	85 ± 3^a	91 ± 2^a
Frutose	112 ± 20^a	86 ± 4^a	91 ± 3^a
Sacarose	194 ± 4^a	145 ± 4^a	153 ± 4^a

Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de *Tukey* ($p<0,05$). Glicose, frutose e sacarose foram expressos em mg por mL de solução.

Apesar da estatística não apresentar diferença significativa ($p<0,05$) entre os dados apresentados é possível verificar redução dos três carboidratos na etapa gástrica, o que poderia explicar parte da redução causada na digestão gástrica dos extratos das frutas aqui estudadas.

Analisando os dados e a literatura, compreende-se que, é esperado em ensaios como a digestão *in vitro*, que os carboidratos mais simples presentes nas amostras, mono e os dissacarídeos, permaneçam intactos ou recebam algum ganho de massa devido a hidrólise de compostos ligados a carboidratos, ou mesmo carboidratos mais complexos, como o amido, que podem sofrer redução através da α -amilase salivar, porém esta enzima não foi utilizada neste estudo. Teoricamente, em ensaios *in vivo*, carboidratos mais simples como glicose e frutose seriam absorvidos ou modificados estruturalmente; e outros mais complexos seriam hidrolisados no processo de digestão intestinal por enzimas específicas (por exemplo, lactase, maltase, trealase e sacarase / invertase α -dextrinase) (RUSSELL *et al.*, 1982).

Entretanto, este estudo, *in vitro*, apresentou redução em parte de seus carboidratos majoritários.

Como descrito por BELITZ *et al.*, (2009), os monossacarídeos são estáveis do pH 3 ao 7. Fora dessa faixa de estabilidade podem ocorrer diferentes tipos de conversões dependendo das condições, como reação de enolização e desidratação da cadeia carbônica, bem como outras modificações químicas estruturais.

É importante notar que a digestão gástrica é realizada em pH 2. Isso pode causar algumas mudanças nas características dos extratos, que podem apresentar redução, principalmente na frutose, por reações como a enolização (BELITZ *et al.*, 2009).

Nas condições ensaiadas neste trabalho, pode ter ocorrido a conversão reversível de glicosídeos, através de conversão ácida ou enolização, sendo possível a formação de dissacarídeos e oligossacarídeos. Uma hipótese é o formação de GF4 no extrato de jaca na etapa de digestão gástrica por não apresentar este oligossacarídeo no extrato bruto. Outros oligossacarídeos também apresentaram aumentos relevantes após sofrerem digestão gástrica ($p < 0,05$), como G3 e G5. Este aumento pode ter ocorrido devido aos carboidratos de cadeia

maior, como o amido, tendo sofrido degradação pela acidez, pode ter aumentado significativamente ($p < 0,05$) as quantidades de maltotriose e maltopentaose, após a digestão gástrica (BELITZ *et al.*, 2009).

Além da hidrólise da cadeia carbônica, a reação de desidratação e a enolização dos carboidratos podem ser iniciadas vagarosamente com a conversão de glicose em 1,2-enediol e frutose em 2,3-enediol, como mostrado na Figura 13.

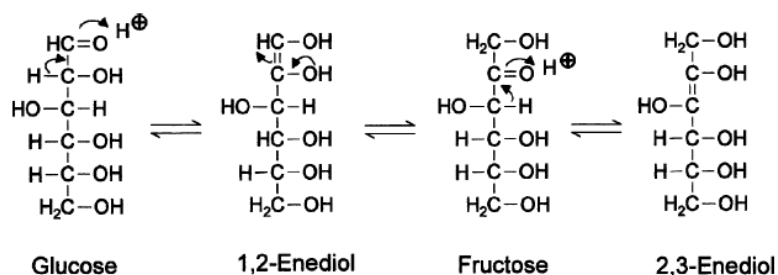


Figura 13: Esquema da formação de enedíois. Fonte: BELITZ *et al.*, 2009.

Partindo dessas moléculas formadas, outras poderiam se formar dependendo das condições as quais foram submetidas as amostras, como mudanças no pH, temperatura e até mesmo a composição de cada amostra. Essas mudanças podem converter esses intermediários, enediol, em D-manose, no caso de glicose, ou D-psicose, no caso da frutose (BELITZ *et al.*, 2009).

Segundo BELITZ *et al.*, (2009), além de ligações intermoleculares, as ligações intramoleculares também podem acontecer, como exemplo, β -*Idopyranose* pode ser facilmente modificada para *1,6-anhydroidopyranose*, enquanto que a mesma reação, porém em condições de acidez extrema pode converter β -D-glicopiranoose sob pirólise de glicose, amido e celulose.

Na fase de reversão em presença de ácidos fortes um ion oxônio é formado e outras possíveis interações podem ser observadas (Figura 14).

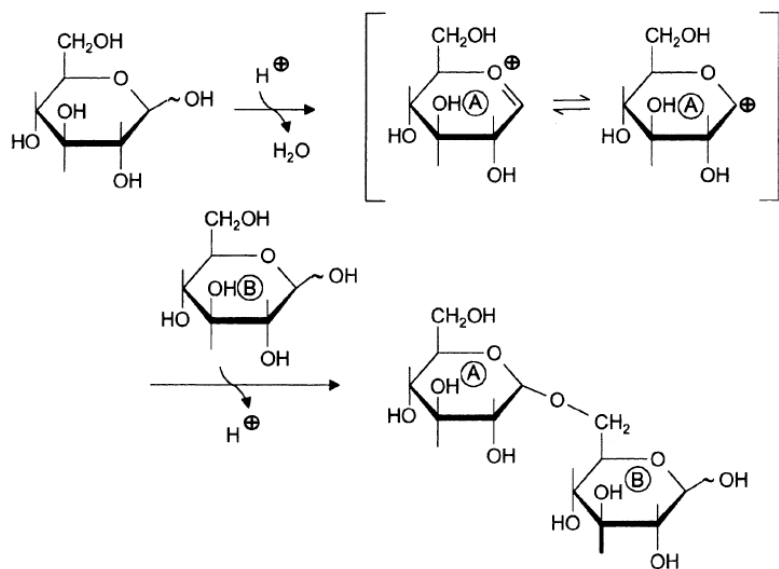


Figura 14: Possíveis reações de reversão sob condições de acidez extrema.
Fonte: BELITZ *et al.*, 2009.

O extrato de jaca apresentou $0,17 \pm 0,001$ mg de maltotetraose por g de FL. Após sofrer a digestão gástrica este oligossacarídeo não foi identificado novamente nas etapas seguintes. Isso pode ser explicado pelo fato de que malto-oligossacarídeos sofrem hidrólise ácida, já que fazem parte da degradação do amido, pois apresentam cadeia composta apenas por ligações do tipo α (O- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)-O- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)-O- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)-D-Glcp), que é facilmente hidrolisada pela acidez (BELITZ *et al.*, 2009).

Como descrito por BRAR *et al.*, (2014) alguns oligossacarídeos, conhecidos como prebióticos, não são hidrolisados na digestão gastrintestinal chegando intactos no intestino grosso, onde são fermentados pelas bactérias locais. Considerando os resultados obtidos, os fruto-oligossacarídeos analisados no extrato de jaca que apresentaram redução na fase gástrica pode apresentar ligações hidrolisáveis em meio ácido e assim serem reduzidos.

Além disso, esta redução na fase gástrica pode também estar de acordo com o proposto por BELITZ *et al.*, (2009) para monossacarídeos submetidos a acidez extrema.

O extrato de araticum apresentou maiores quantidades para a nistose, frutafuranosil nistose, maltotriose, maltotetraose e maltoheptaose, que o extrato de jaca. Nele, GF2 e GF4 apresentaram redução significativa ($p<0,05$) somente após a etapa de fermentação colônica. Esses dados são relevantes do ponto de vista científico, já que este carboidrato foi estabelecido por diversos estudos como prebiótico, pois beneficiam as bactérias probióticas, sendo associado a melhora do sistema imune, produção de ácidos graxos de cadeia curta, entre outros (GIBSON & ROBERFROID, 1995; ATOBE, 2003; JUNEJA *et al.*, 2013).

Com o mesmo perfil apresentado pelo GF3 do extrato de jaca, o perfil de GF3 no extrato de araticum mostrou redução ($p<0,05$) após a fase gástrica e foi estável até mesmo na fermentação colônica ($0,35\pm0,02$, $0,17\pm0,05$ mg de nistose por g de FL, sendo extrato bruto e gástrico, respectivamente).

A análise de malto-oligossacarídeos apresentou uma quantidade significativa de maltotriose presente no extrato bruto de araticum, com valor de $9,6\pm0,07$ mg de maltotriose por g de FL. Após sofrer a digestão gástrica, este oligossacarídeo apresentou redução significativa ($p<0,05$) para $5,46\pm0,06$ mg de maltotriose por g de FL, seguido de aumento significativo ($p<0,05$) após a etapa de digestão intestinal, que foi ainda reduzido significativamente ($p<0,05$) na fase de fermentação colônica ($5,82\pm0,17$ e $4,2\pm0,09$ mg de maltotriose por g de FL, respectivamente). Considerando o oligossacarídeo mais abundante no extrato de araticum, se torna de extrema relevância, já que apesar da degradação / hidrólise após a etapa de digestão gástrica, apresentado pela composição de ligações do tipo α , que sofre hidrólise em meio ácido, mostrou potencial prebiótico que deve ser mais bem investigado (BELITZ *et al.*, 2009).

Outros malto-oligossacarídeos encontrados no extrato bruto de araticum, maltotetraose e maltoheptaose, obtiveram o mesmo comportamento e todas as fases aqui propostas, com a redução significativa ($p<0,05$) na fase gástrica e posterior estabilização deles. Sendo $0,77\pm0,07$ e $0,56\pm0,06$ mg de maltotetraose

por g de FL, extrato bruto e gástrico; e $0,54 \pm 0,06$ e $0,37 \pm 0,02$ mg de maltoheptaose por g de FL, extrato bruto e gástrico, respectivamente.

Ainda analisando as hipóteses para os resultados aqui apresentados, oligossacarídeos e polissacarídeos que são mais solúveis em água podem capturar espécies reativas de oxigênio em diversos casos (Figura 15) incluindo radicais de frutanos que podem ser gerados na interação com compostos fenólicos. Sendo assim, a elevação da AA pelo método de TEAC em araticum e jaca na digestão gástrica pode também ser associada à redução significativa ($p < 0,05$) de GF2 e GF3 nas amostras. É sabido que os oligossacarídeos que apresentam efeito de fibra dietética são estáveis em meio ácido e que não sofreriam hidrólise durante a digestão gástrica, por conter ligações do tipo β e não sofrer hidrólise enzimática. Assim sendo, poderiam se associar a compostos fenólicos ou mesmo apresentar a captura de espécies reativas elevando a AA pelo método TEAC, como mostrado na Figura 16 (GIBSON & ROBERFROID, 1995; LOUIS *et al.*, 2007; BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2010; BELITZ *et al.*, 2009).

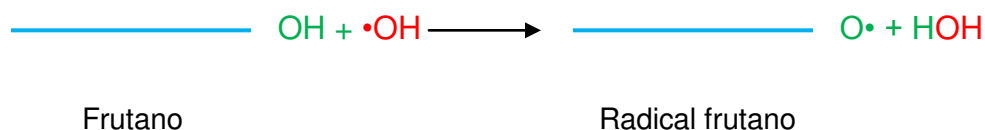


Figura 15: Esquema de captura de espécies reativas de oxigênio por oligossacarídeos.
Fonte: BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2010.

A redução de FT e carboidratos durante a fase de digestão gástrica foi proposta num estudo com células vegetais por BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, (2010), quando observaram uma interação sinérgica entre compostos fenólicos e carboidratos que pode ocorrer em consequência de uma simples ligação atingindo espécies reativas, principalmente em altas concentrações de carboidratos solúveis, o que poderia explicar a redução dos carboidratos simples e FT do extrato de jaca após passar pela digestão gástrica (Figura 20).

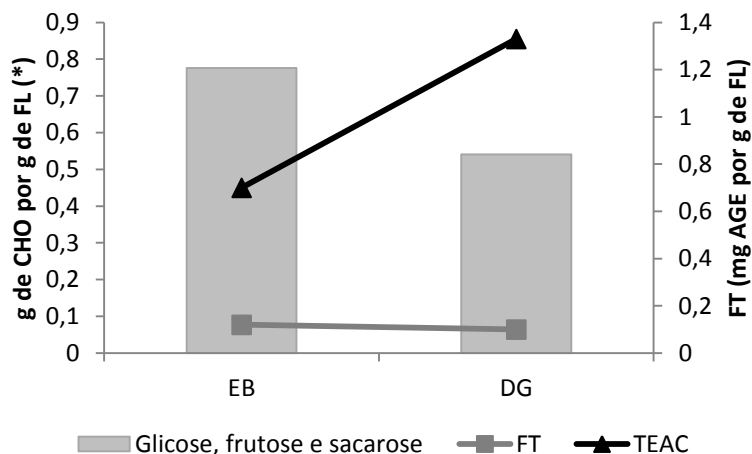


Figura 16: Comportamento de Carboidratos, FT e TEAC do extrato de jaca bruto e da digestão gástrica. (*) Média de glicose, frutose e sacarose.

Ainda é possível que haja outra explicação para a redução dos carboidratos de jaca após sofrerem a digestão gástrica. Esta fruta contém grandes quantidades de lectinas, que podem apresentar característica de formação de grupos prostéticos, podendo formar glicoproteínas, glicolipídeos e nucleoproteínas. Já foi verificado que as lectinas se ligam reversivelmente a carboidratos, como monossacarídeos e oligossacarídeos. Apesar das ligações poderem ocorrer com monossacarídeos, a maior afinidade das lectinas é apresentada a di, tri, tetra e polissacarídeos conjugados (PEDROSO, 2006).

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que os diferentes extratos de frutas (jaca e araticum) têm comportamentos diferentes em testes de fenóis totais, flavonoides, atividade antioxidante e até mesmo do perfil de carboidratos após os processos de digestão gástrica, intestinal e fermentação colônica *in vitro*.

Constatou-se teor apreciável de maltotriose no extrato de bruto de araticum. A digestão gástrica provocou a redução neste oligossacarídeo, aumentando após

a digestão intestinal e demonstrou atividade prebiótica após a etapa de fermentação colônica. Além da maltotriose no araticum, os oligossacarídeos GF2 e GF4 também apresentaram atividade prebiótica. Os fenóis totais sofreram redução após a digestão gástrica, assim como atividade antioxidante por ORAC. Já os flavonoides sofreram redução apenas após a fermentação colônica e ambas atividades antioxidantes (ORAC e TEAC) apresentaram redução.

No extrato de jaca, observou-se a formação de GF4 após a digestão gástrica. O oligossacarídeo GF3 apresentou aumento após a etapa de fermentação colônica. Os flavonoides apresentaram redução após a etapa gástrica seguida de aumento na digestão intestinal e posterior diminuição após a etapa de fermentação. As atividades antioxidantes apresentaram diferentes comportamentos, com resultados relevantes em ORAC após a fermentação colônica.

Em nosso melhor conhecimento, este trabalho descreve a primeira vez que os fenóis totais, os flavonoides, atividade antioxidante e o perfil de carboidratos de extratos das frutas acima mencionados foram avaliados após a digestão e fermentação colônica *in vitro*.

Novos estudos envolvendo a relação entre os compostos fenólicos, atividade antioxidante e carboidratos durante o processo de digestão e de fermentação em condições fisiológicas se fazem necessários, assim como ensaios com células e até mesmo estudos *in vivo*. Além disso, a identificação das moléculas presentes após cada fase, como a estrutura dos principais flavonoides glicosilados poderia mostrar interações importantes entre os carboidratos e compostos fenólicos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPERS, D. H. Carbohydrates: Digestion, Absorption, and Metabolism. v.1, 2 ed, Editora **Academic Press**, p.881-887, 2003.

ANTUNES, R. B. **Avaliação do efeito da digestão *in vitro* na capacidade antioxidante de infusões medicinais: flor de camomila e flor de laranjeira.** Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciência de tecnologia de Lisboa, 2012.

ANDRÉ, C. CASTANHEIRA. I. CRUZ, J. M. PASEIRO, P. SANCHES-SILVA, A. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, nº5, p.229–246, 2010.

ANJO, D. L. C. **Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular.** Jornal Vascular Brasileiro, v.3, nº2, p.145-154, Brasil, 2004.

AZZI, A. & DAVIES, K. Free radical biology – terminology and critical thinking. **FEBS Letters**, v.558, p.3-6, 2004.

APAK, R., GÜÇLÜ, K., DEMIRATA, B., ÖZYÜREK, M., ÇELİK, S. E., BEKTAŞOĞLU, B., ... & ÖZYURT, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, 12(7), 1496-1547, 2007.

AZIZUR RAHMAN, M., NAHAR, N., JABBAR MIAN, A., & MOSIHUZZAMAN, M. Variation of carbohydrate composition of two forms of fruit from jack tree (< i> Artocarpus heterophyllus</i> L.) with maturity and climatic conditions. **Food Chemistry**, 65(1), 91-97, 1999.

ATOBE, J. H. **Efeito do leite fermentado contendo *Lactobacillus casei shirota* na microbiota intestinal de crianças sob terapia antimicrobiana.** Tese (Doutorado em análises clínicas) – Univerisdade de São Paulo. São Paulo, 2003.

BAKER, I., CHOCHAN, M., & OPARA, E. I. Impact of Cooking and Digestion, *In vitro*, on the Antioxidant Capacity and Anti-Inflammatory Activity of Cinnamon, Clove and Nutmeg. **Plant Foods for Human Nutrition**, 68, 364-369, 2013.

BAZZOCCO, S., MATTILA, I., GUYOT, S., RENARD, C. M., & AURA, A. M. Factors affecting the conversion of apple polyphenols to phenolic acids and fruit matrix to short-chain fatty acids by human faecal microbiota *in vitro*. **European journal of nutrition**, 47(8), 442-452, 2008.

BELITZ, H. D., W. GROSCH, AND P. SCHIEBERLE. **Food chemistry, 4.2 Monosaccharides**. 4 ed, Springer, 248-337, 2009.

BETANZO, J, C. Evaluation of food matrix interactions and *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioefficacy of polyphenols from blueberries (*Vaccinium* sp.) **Doctoral thesis**, University of Guelph, Canada, 2013.

BHATT, A., & PATEL, V. Antioxidant activity of garlic using conventional extraction and *in vitro* gastrointestinal digestion. **Free Radicals and Antioxidants**, 3, 30-34, 2013.

BOUAYED, J., HOFFMANN, L., & BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**, 128, 14-21, 2011.

BREITHAUPT, D. E., BAMEDI, A., & WIRT, U. Carotenol fatty acid esters: easy substrates for digestive enzymes?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 132, 721-728, 2002.

BARBALHO, S. M., SOARES DE SOUZA, M. D. S., BUENO, P. C. D. S., GUIGUER, É. L., FARINAZZI-MACHADO, F. M. V., ARAÚJO, A. C., ... & GONÇALVES, P. R. Annona montana Fruit and Leaves Improve the Glycemic and Lipid Profiles of Wistar Rats. **Journal of medicinal food**, 15(10), 917-922, 2012.

BENELLI, P. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. IX – Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> Acesso em: 25 julho de 2014.

BRASIL. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> Acesso em: 05 Janeiro de 2015.

BRAR, S. K., DHILLON, G. S., & SOCCOL, C. R. Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. **Springer New York**, 2014.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. **Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas.** Alimentos e Nutrição, v.15, nº3, p.285-292, Araraquara, 2004.

BONNEMA, L. A. KOLBERG L. W. THOMAS W.; SLAVIN, J. L. Gastrointestinal Tolerance of Chicory Inulin Products. **Journal of the American Dietetic Association.** v.110, p.865–868, Minnessota, 2010.

BOLOURI-MOGHADDAM, M.R. ROY, K. L. XIANG, L. ROLLAND, F. VAN DEN ENDE, W. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **The journal febs.** v.277, p.2022–2037. Luven, 2010.

BORNET, F. R. J. Undigestible sugars in food products. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, v. 59, nº3, p.763–769, Paris, 1994.

BOURRE, J. M. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v.10, p.377-385, França, 2006.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v.56, nº11, p.317-333, New York, 1998.

CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TRUGO, L. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, IN: TESTER, R. F.; KARKALAS, J. Carbohydrates: classification and properties, **Academic Press**, v.2, p. 862-875, Maryland, 2003.

CARABIN, I. G. FLAMM, W. G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v.30, p. 268-282, 1999.

CARRATU, E. e SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. Ann. Ist. **Super Sanità**, v.41, nº1, p.7-16. Roma, 2005.

CHO, S. S. Complex carbohydrates in foods. **CRC Press**. New York: 2011.

CORDEIRO, R.; FERNANDES, P. L.; BARBOSA, L. A. **Semente de linhaça e o efeito de seus compostos sobre as células mamárias**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.19, p.727-732, Brasil, 2009.

CRESPY, V.; MORAND, C.; MANACH, C.; BESSON, C.; DEMIGNE, C.; REMESY, C. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. **American Journal of Physiology**, v.277, p.120–126. França, 1999.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product**, v.26, p.1001-1043, 2009.

CASTRO, R. J., & SATO, H. H. Antioxidant activities and functional properties of soy protein isolate hydrolysates obtained using microbial proteases. **International Journal of Food Science & Technology**, 2013.

ALICE, C. B. SIQUEIRA, N. C. S. MENTZ, L. A. BRASIL E SILVA, G. A. A. JOSÉ, K. F. D. **Plantas medicinais de uso popular, atlas farmacognóstico**. Segunda edição. Universidade Luterana do Brasil, Editora da Ulbra, 2004. p. 14-15.

CODA, R., RIZZELLO, C. G., PINTO, D., & GOBBETTI, M. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. **Applied and environmental microbiology**, 78(4), 1087-1096, 2012.

CORREA-BETANZO, J., ALLEN-VERCOE, E., MCDONALD, J., SCHROETER, K., CORREDIG, M., & PALIYATH, G. Stability and Biological Activity of Wild Blueberry (*Vaccinium Angustifolium*) Polyphenols During Simulated *In vitro* Gastrointestinal Digestion. **Food Chemistry**, 2014.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v.854, p.435-442, 1998.

CHIANG, C. J., KADOUH, H., & ZHOU, K. Phenolic compounds and antioxidant properties of gooseberry as affected by *in vitro* digestion. **LWT-Food Science and Technology**, 51(2), 417-422, 2013.

DAGLIA, M., PAPETTI, A., GREGOTTI, C., BERTÈ, F., & GAZZANI, G. *In vitro* antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(5), 1449-1454, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. Artmed, 2010

DAVIES, N. T. Anti-nutrient factors affecting mineral utilization. **Proceedings of the Nutrition Society**. 38:121–128, 1979.

DE AGUIAR, C. L., DE ALENCAR, S. M., TSAI, S. M., & PARK, Y. K. **Transformações enzimáticas de flavonóides**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, 25(1), 2007.

DE OLIVEIRA, D. M., & BASTOS, D. H. M. **Biodisponibilidade de ácidos fenólicos**. Química Nova, 34, 1051-1056, 2011.

DOS REIS NUNES, C., BERNARDES, N. R., DE LIMA GLÓRIA, L., & DE OLIVEIRA, D. B. **Flavonoides em Annonaceae: ocorrência e propriedades biológicas**. Vértices, 14(1), 39-57, 2012.

DOS SANTOS, G. M., MAIA, G. A., DE SOUSA, P. H. M., DA COSTA, J. M. C., DE FIGUEIREDO, R. W. & DO PRADO, G. M. **Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí** (*Euterpe oleracea* Mart). Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58, 187-192, 2008.

DIPLOCK A.T. AGGETT, P. J. ASHWELL, M. BORNET, F. FERN, E. B. ROBERFROID, M. B. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal of Nutrition**. United Kingdom, v.81, p.1–27, 1999.

FANG, S. C., HSU, C. L., & YEN, G. C. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. **Journal of agricultural and food chemistry**, 56(12), 4463-4468, 2008.

FALLER, A. L. K., FIALHO, E., & LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of Feijoadá whole meal coupled with an *in vitro* digestion. **Journal of agricultural and food chemistry**, 60, 4826-4832, 2012.

FAYED, S. A. Antioxidant and anticancer activities of *Citrus reticulata* (Petitgrain Mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) essential oils. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**. 5(5), 740-747, 2009.

FLAMBÓ, Diana Filipa Afonso Lopes Peres. **Atividades biológicas dos Flavonoides**. Dissertação de Mestrado. Universidade Fernando Pessoa. 2013.

FLICKER, autores diversos. Disponível em: <http://www.flicker.com>. Acesso em: 06 Fevereiro de 2015.

FURLONG, Eliana Badiale et al. **Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais**. 2003.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Dicionário da Língua Portuguesa**. Segunda edição. Rio de Janeiro: Nova Fronteira: p.978, 1986.

FIGUEIREDO, P. ALBUQUERQUE, F. ROMEIRO S. **Proantocianidinas na dieta humana. Influência na prevenção de doenças cardiovasculares**, Studia 16, 2013.

FRIEDMAN, M. & JURGENS, H. S. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, 48, 2101-2110, 2000.

FU, L., XU, B. T., XU, X. R., GAN, R. Y., ZHANG, Y., XIA, E. Q., & LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, 129(2), 345-350, 2011.

GEORGE, V. C., KUMAR, D. N., RAJKUMAR, V., SURESH, P. K., & ASHOK, R. Quantitative assessment of the relative antineoplastic potential of the n-butanolic leaf extract of *Annona Muricata* Linn. in normal and immortalized human cell lines. Asian Pacific. **Journal of Cancer Prevention**, 13(2), 699-704, 2012.

GUTTERIDGE, J. Free radicals and aging. **Reviews in Clinical Gerontology**, 4(04), 279-288, 1994.

GIMÉNEZ, B., MORENO, S., LÓPEZ-CABALLERO, M. E., MONTERO, P., & GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Antioxidant properties of green tea extract incorporated to fish gelatin films after simulated gastrointestinal enzymatic digestion. **LWT-Food Science and Technology**, 2013.

GOH, L. M., & BARLOW, P. J. Flavonoid recovery and stability from Ginkgo biloba subjected to a simulated digestion process. **Food chemistry**, 86, 195-202, 2004.

GONI, I., SERRANO, J., & SAURA-CALIXTO, F. Bioaccessibility of α -carotene, lutein and lycopene from fruits and vegetables. **Journal of agricultural and food chemistry**, 54, 5382-5387, 2006.

GIBSON, G. R.; PROBERT, H. M.; LOO, J. V.; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v.17, nº2, p 259–275, Reading, 2004.

GIBSON, G. R. E ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.1401–1412, Cambridge, 1995.

GOLDBERG, D. M., YAN, J., & SOLEAS, G. J. Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. **Clinical biochemistry**, 36(1), 79-87, 2003.

HARTEMINK, R.; VANLAERE, K.M.J.; ROMBOUTS, F.M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, v.383, p.367-374, Wageningnen, 1997.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.52, p.481-504, 2000.

HEPP, L. U., DELANORA, R., & TREVISAN, A. **Compostos secundários durante a decomposição foliar de espécies arbóreas em um riacho do sul do Brasil**. Acta Botânica Brasileira, 23(2), 407-413, 2009.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical pharmacology**, 32(7), 1141-1148, 1983.

HEIM, K. E. TAGLIAFERRO, A. R. & BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of nutritional biochemistry**, 13, 572-584, 2002.

HOST, B. & WILLIAMSON, G. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. **Natural Products Reports**, v.21, p.425-47, Switzerland, 2004.

HORST, M. A. & LAJOLO, F. M. 35 **Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos**, 2009.

HUANG, W. Y., CAI, Y. Z. CORKE, H. & SUN, M. Survey of antioxidant capacity and nutritional quality of selected edible and medicinal fruit plants in Hong Kong. **Journal of food composition and analysis**, 23(6), 510-517, 2010.

HUE & KIM (1997, apud NO-SEONG K. e JUKES D. J.). Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food control**, v.12, p.99-107, United Kingdom, 2001.

HUR, S. J. LEE, S. Y. KIM, Y. C. CHOI, I. & KIM, G. B. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. **Food chemistry**, 160, 346-356, 2014.

ISHIHARA, N., CHU, D-C., AKACHI, S., AND JUNEJA, L. R. Improvement of intestinal microbiota balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. **Livestock Production Science**. 68: 217–229, 2001.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford. XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006) created by M. Nic, J. Jirad, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook, 1997.

JAGTAP, U. B.; BATAP, V. A. Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**. V.129, P142–166, 2010.

JAGTAP, U. B., PANASKAR, S. N., & BAPAT, V. A. Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. **Plant foods for human nutrition**, 65(2), 99-104, 2010.

JUNEJA, L. R., KAPOOR, M. P., OKUBO, T., & RAO, T. Green tea polyphenols: nutraceuticals of modern life. New York: Editora CRC Press, 2013.

JARDINI, F. A. LIMA, A., MENDONÇA, R. Z. PINTO, R. J. MANCINI, D. A. P. & MANCINI-FILHO, J. **Compostos fenólicos da polpa e sementes de romã (*Punica granatum*, L.): atividade antioxidante e protetora em células MDCK**. Alimentos e Nutrição Araraquara, 21(4), 509-518, 2010.

JIMÉNEZ, V. M., GRUSCHWITZ, M., SCHWEIGGERT, R. M., CARLE, R., & ESQUIVEL, P. Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. **Food Research International**, 2014.

JULIÁN-LOAEZA, A. P. SANTOS-SÁNCHEZ, N. F. VALADEZ-BLANCO, R., SÁNCHEZ-GUZMÁN, B. S. & SALAS-CORONADO, R. Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. **Industrial Crops and Products**, 34(2), 1262-1268, 2011.

KONISHI, Y. ZHAO, Z. & SHIMIZU, M. Phenolic acids are absorbed from the rat stomach with different absorption rates. **Journal of agricultural and food chemistry**, 54(20), 7539-7543, 2006.

KARPPINEN, S. LIUKKONEN, K. AURA, A. M. FORSELL, P. & POUTANEN, K. *In vitro* fermentation of polysaccharides of rye, wheat and oat brans and inulin by

human faecal bacteria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80(10), 1469-1476, 2000.

LAFAY, S. GIL-IZQUIERDO, A. MANACH, C. MORAND, C. BESSON, C., & SCALBERT, A. Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats. **The Journal of nutrition**, 136(5), 1192-1197, 2006.

LALOJO, F. M. & GENOVESE, M. I. **Determinação de isoflavonas em derivados de soja**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.21, nº1, p.86-93, Campinas, 2001.

LANDETE, J. M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. **Critical reviews in food science and nutrition**, 52(10), 936-948, 2012.

LARROSA, M. YAÑÉZ-GASCÓN, M. J. SELMA, M. V. GONZÁLEZ-SARRÍAS, A. TOTI, S. CERÓN, J. J. ... & ESPÍN, J. C. Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. **Journal of agricultural and food chemistry**, 57(6), 2211-2220, 2009.

LARSON, L. A. The antioxidant of higher plants. **Phytochemistry**, v.27 (4), p.969 – 987, Urbana, 1988.

LEÃO, Tarciso. **Annona montana**. Disponível em <https://www.flickr.com/search/?q=annona%20montana> Acesso em 02 de fevereiro de 2015.

LEITE-LEGATTI, A. V. BHATISTA, Â. G. DRAGANO, N. R. V. MARQUES, A. C. MALTA, L. G. RICCIO, M. F. ... & MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, 49(1), 596-603, 2012.

LE, K. CHIU, F. & NG, K. Identification and quantification of antioxidantes in Fructus lycii. **Food Chemistry**, 105, 353-363, 2007.

LEE, K. G. & SHIBAMOTO, T. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum*(L.) Merr. et Perry]. **Food Chemistry**, 74, 443-448, 2001.

LEE, P. R. TAN, R. M. YU, B. CURRAN, P. & LIU, S. Q. Sugars, organic acids, and phenolic acids of exotic seasonable tropical fruits. **Nutrition & Food Science**, 43(3), 267-276, 2013.

LIAW, C. C. CHANG, F. R. CHEN, S. L. WU, C. C. LEE, K. H. & WU, Y. C. Novel cytotoxic monotetrahydrofuranic Annonaceous acetogenins from *Annona montana*. **Bioorganic & medicinal chemistry**, 13(15), 4767-4776, 2005.

LIM, T. K. Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1, pp. 656-687). **Springer**, 2012.

LIU, R. H. Potencial synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The journal of nutrition**, v.134, p.3479-3485, Ithaca, 2004.

LIN, C. N. LU, C. M. & HUANG, P. L. Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus*. **Phytochemistry**, 39(6), 1447-1451, 1995.

LOIZZO, M. R. TUNDIS, R. BONESI, M. MENICHINI, F. MASTELLONE, V. AVALLONE, L., & MENICHINI, F. Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill.(cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, 25(2), 179-184, 2012.

LOUIS, P. SCOTT, K. P. DUNCAN, S. H. FLINT, H. J. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. **Journal of Applied Microbiology**, v.102, p.1197-208, Aberdeen 2007.

LOURES, A. COELHO, D. T. & LENZA, L. C. **Determinação de alguns fatores antifisiológicos na banana verde (*Musa sapientum* Shum), farinha de banana**

e pães preparados com farinha composta. Revista de farmácia e bioquímica, 11(1/2), 45-51, 1990.

MALTA, L. G. **Avaliação biológica de frutas do cerrado brasileiro: guapeva, gabioba e murici.** Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

MANACH, C. SCALBERT, A. MORAND, C. RÉMÉSY, C. & JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The american journal of clinical nutrition**, 79, 727-747, 2004.

MANACH, C. C. RÉMÉSY, M. JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal Clinical Nutrition**, v.79, p.727-47, United States of America, 2004.

MARAZZA, J. A. GARRO, M. S. & SAVOY DE GIORI, G. Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. **Food microbiology**, 26(3), 333-339, 2009.

MORAES, F. P. & COLLA, L. M. **Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde.** Revista Eletrônica de Farmácia, 3(2), 2007.

MORI, K. KOBAYASHI, C. TOMITA, T. INATOMI, S. IKEDA, M. Antiatherosclerotic effect of the edible mushrooms *Pleurotus eryngii* (Eringi), *Grifola frondosa* (Maitake), and *Hypsizygus marmoreus* (Bunashimeji) in apolipoprotein E-deficient mice. **Nutrition Research**, v.28, n°5, p.335–342. Japão, 2008.

MUROTO, K. & TERAOKA, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 417(1), 12-17, 2003.

MUSSATO S. I. MANCILHA, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review. **Carbohydrates Polymers**, v.68, n°3, p.587 – 597, São Paulo, 2007.

MANZONI, M. S. J. CAVALLINI, D. C. U. & ROSSI, E. A. **Efeitos do consumo de probióticos nos lípides sanguíneos**. Alimentos e Nutrição Araraquara, 19(3), 351-360, 2009.

MITSUOKA, T. OHNO, K. BENNO, Y. SUZUKI, K. & NAMBA, K. The fecal flora of man. IV. Communication: Comparison of the newly developed method with the old conventional method for the analysis of intestinal flora (author's transl)]. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A: **Medizinische Mikrobiologie immunologie und Parasitologie**, 234(2), 219-233, 1976.

MAZIERO, M. T. ZANETTE, C. M. STELLA, F. M. & WASZCZYNSKYJ, N. **Pão com adição de inhame**. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, 3(2), 2009.

MALTA, L. G. TESSARO, E. P. EBERLIN, M. PASTORE, G. M. & LIU, R. H. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, 53(1), 417-425, 2013.

MANACH, C. WILLIAMSON, G. MORAND, C. SCALBERT, A. & RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American journal of clinical nutrition**, 81(1), 230S-242S, 2005.

MUNIZ, H. J. T. **Colecionando frutas: 100 espécies de frutas nativas e exóticas**. 1 ed. Editora Arte & Ciência, p. 27-41, 2008.

NAWWAR, M. AYOUB, N. HUSSEIN, S. HASHIM, A. EL-SHARAWY, R. WENDE, K. ... & LINDEQUIST, U. Flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn. **Archives of pharmacal research**, 35(5), 761-767, 2012.

OHTA, Atsutane et al. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. **The Journal of nutrition**, v. 128, n. 6, p. 934-939, 1998.

OLIVEIRA, I. D. M., ANDRADE, R. D. & Martins, A. B. G. **Influência da temperatura na germinação de sementes de *Annona montana***. Revista Brasileira de Fruticultura, 27(2), 344-345, 2005.

OU, B. HAMPSCH-WOODILL, M. & PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of agricultural and food chemistry**, 49(10), 4619-4626, 2001.

OLIVEIRA, A. C. VALENTIM, I. B. GOULART, M. O. F. SILVA, C. A. BECHARA, E. J. H. TREVISAN, M. T. S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes**. Química Nova, v.32, nº3, São Paulo, 2009.

OLIVEIRA, D. M. BASTOS, D. H. M. **Biodisponibilidade de ácidos fenólicos**. Química Nova, v.34, nº6, p.1051-1056. São Paulo, 2011.

OLSSON, M. E. EKVALL, J. GUSTAVSSON, K-E. NILSSON, J. PILLAI, D. SJOHOLM, I. SVENSSON, U. AKESSON, B. NYMAN, M. G. L. Antioxidants, Low Molecular Weight Carbohydrates, and Total Antioxidant Capacity in Strawberries (*Fragaria - ananassa*): Effects of Cultivar, Ripening, and Storage. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.52, nº 9, Lund, 2004.

ONG, B. T. NAZIMAH, S. A. H. OSMAN, A. QUEK, S. Y. VOON, Y. Y. HASHIM, D. ... & KONG, Y. W. Chemical and flavour changes in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) cultivar J3 during ripening. **Postharvest Biology and Technology**, 40(3), 279-286, 2006.

PASSOS, L. M. L. & PARK, Y. K. **Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos**. Ciência Rural, v.33, nº2, p.385–390. Santa Maria, 2003.

PAVAN, V. SANCHO, R. A. S. & PASTORE, G. M. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). **LWT-Food Science and Technology**, 2014.

PAYNE, A. N., ZIHLER, A., CHASSARD, C., & LACROIX, C. Advances and perspectives in *in vitro* human gut fermentation modeling. **Trends in biotechnology**, 30(1), 17-25, 2012.

PEDROSO, M. M. **Estudo da interação lectina-carboidrato por meio da técnica de microbalança de cristal de quartzo**. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos, 2006.

PELEG, H. BODINE, K.K. NOBLE, A.C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v.23, nº3, p.371-378, Oxford, 1998.

PEREIRA, V. J. & KAPLAN, M. A. C. **Artocarpus: Um Gênero Exótico de Grande Bioatividade**. Floresta e Ambiente, 20(1), 1-15, 2013.

PRADO, V. D. S. **Estudos visando a síntese do alcaloide indolizidínico (+)-ipalbidina**. 2012. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo.

PRETTE, A. P. **Aproveitamento de polpa e resíduos de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) através de secagem convectiva**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Campina Grande. 2012

PREETHI, K. PREMASUDHA, P. & KEERTHANA, K. Anti-inflammatory Activity of *Muntingia calabura* Fruits. **Pharmacognosy Journal**, 4(30), 51-56, 2012.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. AURA, A.M. OKSMAN-CALDENTY, K.M. MYLLÄRINEN, P. SAARELA, M. MATTILA-SANHOLM, T. POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science Technology**, v.13, p.3-11, Amsterdam, 2002.

RATHEE S. RATHEE, D. KUMAR V. & RATHEE P. Mushrooms as therapeutic agents. **Revista brasileira Farmacognosia**, v.22, nº2, Curitiba, 2012.

RATNAM, D. V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. K., & KUMAR, M. N. V. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, 113(3), 189-207, 2006.

ROHR, R. **Caracterização do solo e da serrapilheira em área de ocorrência de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* L.)** no Parque Natural Municipal da Serra do Mendanha-RJ, 2008.

RIBANI, R. H. **Compostos fenólicos em erva mate e frutas**. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade estadual de Campinas), 2006.

ROESLER, R.; MALTA, L., G.; CARRASCO, L., C.; PASTORE, G. Evaluation of antioxidant properties of the Brazilian Cerrado Fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Food Chemistry and Toxicology**, v.71, nº2, p.102-107, Campinas, 2006.

RODRIGUEZ-MATEOS, A., VAUZOUR, D., KRUEGER, C. G., SHANMUGANAYAGAM, D., REED, J., CALANI, L., ... & CROZIER, A. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of toxicology**, 88(10), 1803-1853, 2014.

RECHNER, A. R., KUHNLE, G., BREMNER, P., HUBBARD, G. P., MOORE, K. P., & RICE-EVANS, C. A. The metabolic fate of dietary polyphenols in humans. **Free Radical Biology and Medicine**, 33, 220-235, 2002.

RECORD, I. R., & LANE, J. M. Simulated intestinal digestion of green and black teas. **Food Chemistry**, 73(4), 481-486, 2001.

REGASINI, L. O., FERNANDES, D. C., CASTRO-GAMBOA, I., SILVA, D. H. S., FURLAN, M., BOLZANI, V. S., ... & OLIVEIRA, O. M. M. **Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (Caesalpinioideae)**. Química Nova, 31(4), 802-806, 2008.

RIVERA-PASTRANA, D. M., YAHIA, E. M., & GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 90, 2358-2365, 2010.

ROESLER, R., MALTA, L. G., CARRASCO, L. C., & PASTORE, G. Evaluation of the antioxidant properties of the Brazilian cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, 71, C102-C107, 2006.

ROESLER, R., MALTA, L. G., CARRASCO, L. C., HOLANDA, R. B., SOUSA, C. A. S., & PASTORE, G. M. **Atividade antioxidante de frutas do cerrado**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27(1), 53-60, 2007.

RUSSELL, J. B - **Química Geral**. 2ª Ed. McGraw Hill Ltda. São Paulo, 1982.

SAAD, B.; SING, Y. Y.; NAWI, M. A.; HASHIM, N.; ALI, A. S. M.; SALEH, M. I.; SULAIMAN, S. F. S.; TALIB, K. M.; AHMAD, K. Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed - phase HPLC. **Food Chemistry**, v.105, nº1, p.389–394, Penang, 2007.

SANCHO, R. A. S., & PASTORE, G. M. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. **Food Research International**, 46, 378-386, 2012.

SENGER, A. E., SCHWANKE, C. H., & GOTTLIEB, M. G. Green tea (*Camellia sinensis*) and its functional properties on transmissible chronic diseases [Abstract in English]. **Scientia Medica**, 20, 2011.

SAAD, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(1), 1-16, 2006.

SANIOTO, D. L. **Sistema digestivo: Digestão**. In Aires MM (ed) - Fisiologia. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p.601-629, 1991.

SANTOS-BUELGA, C. & SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal Science Food Agriculture**, v.80, nº7, p.1094-1117, Salamanca, 2000.

SCALBERT, A. & WILLIANSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal Nutricional**, v.130, p.2073 - 2085, Colney, 2000.

SHRIKANTA, A., KUMAR, A., & GOVINDASWAMY, V. Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. **Journal of Food Science and Technology**, 1-8, 2013.

SHANMUGAPRIYA, K., SARAVANA, P. S., PAYAL, H., MOHAMMED, S. P., & BINNIE, W. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of Artocarpus heterophyllus and Manilkara zapota seeds and its reduction potential. **International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**,3(5), 2011.

SHAHEEN, S. Z., BOLLA, K., VASU, K., & CHARYA, M. S. Antimicrobial activity of the fruit extracts of Coccinia indica. **African journal of Biotechnology**, 8(24), 2009.

SCHARRER, E., & LUTZ, T. Effects of short chain fatty acids and K on absorption of Mg and other cations by the colon and caecum. **Zeitschrift für Ernährungswissenschaft**, 29(3), 162-168, 1990.

SKINNER, M. HUNTER, D. Bioactives in Fruit: **Health Benefits and Functional Foods**. pag 1-9, 2013.

SOLOMONS, G. T. W.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**, v.2, 9ª edição, Editora LTC, 2009.

SWAMI, S. B., THAKOR, N. J., HALDANKAR, P. M., & KALSE, S. B. Jackfruit and Its Many Functional Components as Related to Human Health: A

Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 11, 565-576, 2012.

TAVARES, L., FIGUEIRA, I., MACEDO, D., MCDOUGALL, G. J., LEITÃO, M. C., VIEIRA, H. L., ... & SANTOS, C. N. Neuroprotective effect of blackberry (< i> Rubus</i> sp.) polyphenols is potentiated after simulated gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, 131, 1443-1452, 2012.

TRINDADE, M. B., LOPES, J. L., SOARES-COSTA, A., MONTEIRO-MOREIRA, A. C., MOREIRA, R. A., OLIVA, M. L. V., & BELTRAMINI, L. M. Structural characterization of novel chitin-binding lectins from the genus< i> Artocarpus</i> and their antifungal activity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, 1764(1), 146-152.sw, 2006.

VAN DEN ENDE, W., PESHEV, D., & DE GARA, L. Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. **Trends in Food Science & Technology**, 22, 689-697, 2011.

VAN DER WAAIJ, D., BERGHUIS-DE VRIES, J. M., & LEKKERKERK-VAN DER WEES, J. E. C. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. **Journal of Hygiene**, 69(03), 405-411, 1971

VINGTDEUX V.; DRESES-WERRINGLOER U.; ZHAO H.; DAVIES P. & MARAMBAUD P. Therapeutic potential of resveratrol in Alzheimer's disease. **BMC Neuroscience**, v.9, p.2-6, United States of America, 2008.

VIRTANEN, T., PIHLANTO, A., AKKANEN, S., & KORHONEN, H. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. **Journal of applied microbiology**, 102(1), 106-115, 2007.

World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva; 2003. (WHO technical report series, 916).

WANG, X., YUAN, S., WANG, J., LIN, P., LIU, G., LU, Y., ... & WEI, Y. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer *in vitro* and *in vivo*. **Toxicology and applied pharmacology**, 215(2), 168-178, 2006.

WEN-CHUN LAN, CHENG-WEI TZENG, CHUN-CHING LIN, FENG-LIN YEN, HORNG-HUEY KO, Prenylated flavonoids from *Artocarpus altilis*: Antioxidant activities and inhibitory effects on melanin production. 2013. **Phytochemistry** 89 78–88, 2013.

WICHIENTHOT, S., JATUPORNPIPAT, M., & RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food chemistry**, 120(3), 850-857, 2010.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides - Occurrence, preparation and applications. **Enzymes and Microbial Technology**, v.19, p.107-117, Kyungbug, 1996.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., & JIANMING, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, 64, 555-559.