

BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE POLPA DE JUÇARA EM PÓ (*Euterpe edulis*)

Danielle Cunha de Souza Pereira^{1,*}, Laurine Cristina Paulo da Silva¹, Carolina Beres², Karina Maria Olbrich dos Santos²; Flávia dos Santos Gomes², Lourdes Maria Corrêa Cabral²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Tecnologia (IT), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

²Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil.

*Autor para correspondências: danielle.pereira@ifsudestemg.edu.br

RESUMO

A juçara é uma fruta nativa do Brasil que possui alto teor de compostos bioativos. O beneficiamento desses frutos para obtenção da polpa vem sendo realizado como alternativa de exploração comercial da palmeira. A secagem por *spray drying* é uma técnica com o intuito de conservar a polpa e facilitar sua utilização como ingrediente em diversos produtos. Entretanto, a bioacessibilidade dos compostos bioativos da juçara após o processamento deve ser avaliado. Desse modo, este trabalho objetivou avaliar a bioacessibilidade de compostos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante da polpa de juçara em pó submetida à digestão (oral-gástrica-entérica) e fermentação colônica, utilizando microbiota intestinal humana. A influência do pó de juçara na contagem de microrganismos e na produção de gás amônio foi determinada após a fermentação colônica. Os conteúdos iniciais de antocianinas e compostos fenólicos totais foram de 6.970,40 mg/100 g e 14.084,65 mg/100 g, enquanto que após a digestão *in vitro* (intestino delgado), os valores foram de 1.693,31 mg/100 g e 15.640,37 mg/100g, respectivamente, indicando uma degradação das antocianinas e um aumento do teor de compostos fenólicos. A capacidade antioxidante, determinada pelo método ABTS, após digestão *in vitro* (intestino delgado), aumentou 83,71%, após a fermentação colônica. A fermentação da polpa de juçara (intestino grosso) resultou em aumento da capacidade antioxidante (ABTS: 3.232,17 µmol de Trolox/g) e manutenção da contagem de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium* após fermentação por 48 h, enquanto *Escherichia coli* manteve-se constante. O pó de juçara apresentou elevada propriedade bioativa, com potencial utilização como ingrediente, adicionando propriedades funcionais aos alimentos. Mais estudos são necessários para determinar a influência dos compostos bioativos na modulação da microbiota intestinal.

Palavras-chave: juçara 1; antocianinas 2; compostos fenólicos 3; microbiota intestinal 4.

1. INTRODUÇÃO

Juçara (*Euterpe edulis*) é uma palmeira nativa da Mata Atlântica brasileira, que tem como principal produto de exploração o palmito (Pereira *et al.*, 2017). No entanto, sua cultura insustentável colocou essa espécie na lista de plantas ameaçadas de extinção (Brasil, 2008) de forma que a valorização econômica de frutos de juçara, ao invés do seu palmito, é uma alternativa mais sustentável para sua gestão e preservação do meio ambiente (Lacerda *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2018).

A fruta de juçara é uma baga de cor preta-violeta relacionada ao alto teor de antocianinas (192 a 1203,75 mg / 100 g) (Rufino *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2017). Os pigmentos de antocianinas podem ser utilizados como corantes alimentares naturais, sendo uma alternativa aos corantes sintéticos, que recentemente atraíram a preocupação pública quanto à segurança e os efeitos adversos à saúde humana (Khoo *et al.*, 2017; Sigurdson *et al.*, 2017; Sipahli *et al.*, 2017). Além do uso como corantes naturais, as antocianinas estão associadas a potenciais

benefícios para a saúde, como efeitos anticancerígenos, antimutagênicos, antimicrobianos, antiinflamatórios, antineurodegenerativos e proteção contra o dano oxidativo induzido por UVB, tanto *in vitro* como *in vivo* (Nile & Park, 2014; Silván *et al.*, 2016; Khoo *et al.*, 2017).

Além do potencial bioativo, a polpa de juçara possui importante valor nutricional, com proteínas, açúcares, fibras e fração lipídica, com alto teor de ácidos graxos poli-insaturados e menor teor de lipídios saturados (Guergoletto *et al.*, 2016). No entanto, a polpa de juçara é perecível à temperatura ambiente (Pereira *et al.*, 2017), o que favorece a ocorrência de reações químicas e enzimáticas que podem acelerar a deterioração do produto. A secagem por atomização é uma tecnologia bem estabelecida que pode ser usada para secagem desse produto, permitindo uma maior vida útil e uma aplicação industrial mais ampla.

A biodisponibilidade vem sendo definida como a proporção do composto ingerido que é absorvido e metabolizado por vias normais de absorção (Sengul *et al.*, 2014). Entre os fatores que determinam a biodisponibilidade de compostos bioativos está a bioacessibilidade, que é definida como a fração de um composto que é liberado da matriz alimentar e se encontra potencialmente disponível para absorção e metabolização. Somente polifenóis liberados da matriz alimentar pela ação de enzimas digestivas (intestino delgado) e microbiota bacteriana (intestino grosso) são bioacessíveis no intestino e, portanto, potencialmente biodisponíveis (Saura-Calixto *et al.*, 2007; Schulz *et al.*, 2017).

O efeito *in vivo* de todos os compostos fenólicos depende de vários fatores, a exemplo da sua absorção e alterações promovidas ao longo do trato gastrointestinal. Assim, a concentração da polpa de juçara não é garantia de aumento da biodisponibilidade de compostos bioativos. Estima-se que 90-95% dos polifenóis resistem à digestão e se acumulam no lúmen do intestino grosso, onde a microbiota colônica origina uma série de metabólitos de baixo peso molecular que, podem ser os verdadeiros responsáveis pelos efeitos benéficos à saúde (Tuohy *et al.*, 2012; Guergoletto *et al.*, 2016).

Os modelos de mimetização da digestão humana *in vitro* que simulam a digestão na cavidade oral, estômago, intestino delgado e no intestino grosso têm sido desenvolvidos e empregados para prever a liberação de compostos bioativos da matriz alimentar (bioacessibilidade), e para avaliar as mudanças em seus perfis antes da absorção (biodisponibilidade).

Visto a importância de se conhecer a bioacessibilidade dos compostos bioativos este estudo teve como objetivo investigar a bioacessibilidade de uma polpa de juçara em pó submetida à simulação da digestão e fermentação colônica *in vitro* e determinação das alterações promovidas pelo produto na microbiota humana.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Polpa de juçara congelada foi adquirida de um produtor rural, localizado em Rio Pomba, Minas Gerais. Os frutos de juçara utilizados para a fabricação da polpa foram colhidos em Rio Pomba entre as coordenadas 21 ° 09 '19.2 "e 21 ° 09' 09.3" S e 43 ° 09 '12.5 "e 43 ° 08' 58.8" W, em novembro de 2016. A polpa foi armazenada a -18 ° C até o seu processamento.

2.1. Secagem da polpa de juçara por atomização (*spray drying*)

Para a secagem da polpa foi utilizado atomizador de laboratório LabPlant TM SD-06 (Huddersfield, Inglaterra), com bocal de 2,0 mm de diâmetro e câmara de pulverização principal de 500 x 215 mm. Polpa de juçara a 20 °C, sem adição de agentes carreadores, foi utilizada para alimentar a câmara principal através de uma bomba peristáltica. A pressão do ar do compressor foi de 0,25 Mpa, a taxa de fluxo de alimentação foi de 9 g / min e a temperatura do ar de entrada e saída foi de 160 ± 2 °C e 86 ± 2 °C (Silva *et al.*, 2013; Bicudo *et al.*, 2015;

Lacerda *et al.*, 2016). A fim de manter a homogeneidade, a polpa foi mantida sob agitação magnética ao longo do processo.

2.2. Análises espectrofotométricas

O conteúdo fenólico total foi determinado utilizando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com o método descrito por Singleton & Rossi (1965) e modificado por Georgé *et al.* (2005). Os resultados foram expressos como mg de de ácido gálico equivalente (GAE) por 100 g de amostra.

O teor de antocianinas foi determinado utilizando o método espectrofotométrico de pH diferencial como descrito por Giusti & Wrolstad (2001). Os resultados foram expressos como mg de cianidina-3-glucósido por 100 g de amostra.

A capacidade antioxidante foi determinada usando o método ABTS^{•+} (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) (RE *et al.*, 1999). Os resultados foram expressos como μmol de equivalentes de Trolox por g de amostra. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3. Análise de bioacessibilidade: simulação da digestão gastrointestinal *in vitro*

Para realizar o procedimento de digestão *in vitro*, foi utilizado o método descrito por Gião *et al.* (2012). Os procedimentos realizados para a realização da digestão gastrointestinal *in vitro* estão descrito na Figura 1. Após a digestão intestinal, 5 mL das amostras digeridas foram colocadas em frascos reatores estéreis contendo 5 mL de fezes humana diluída 1:10 em solução salina tamponada com fosfato e 45 mL de caldo nutriente basal, conforme descrito por Guergoletto *et al.* (2016). Os reatores (T0h) foram incubados a 37 °C em banho-maria em condições anaeróbicas utilizando N₂ livre de O₂ por um período de 48 h (T48h). Alíquotas do T0h e do T48h foram homogeneizadas em água peptona, com posterior diluição seriada e plaqueamento com método *pour plate* em meio de cultura BIM - Bifidobacterium iodoacetato meio, MRS - *Lactobacillus* acidificado, RCA - ágar-ágar para clostrídios, e *Petrifilm* para posterior contagem de microrganismos dos gêneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium* e *Escherichia coli*, respectivamente. Após o plaqueamento, exceto para o *Petrifilm* que foi incubado 37 °C/3 dias, os meios foram incubados a 37 °C em condições anaeróbicas por 5 dias. Um reator contendo somente as fezes e o caldo nutriente basal, também foi utilizado no experimento como controle.

Para a mensuração de produção de gás amônio, amostras oriundas dos reatores T48h foram avaliadas utilizando *kit* comercial HANNA[®] Checker[®]HC modelo HI715 de acordo com o manual do fabricante.

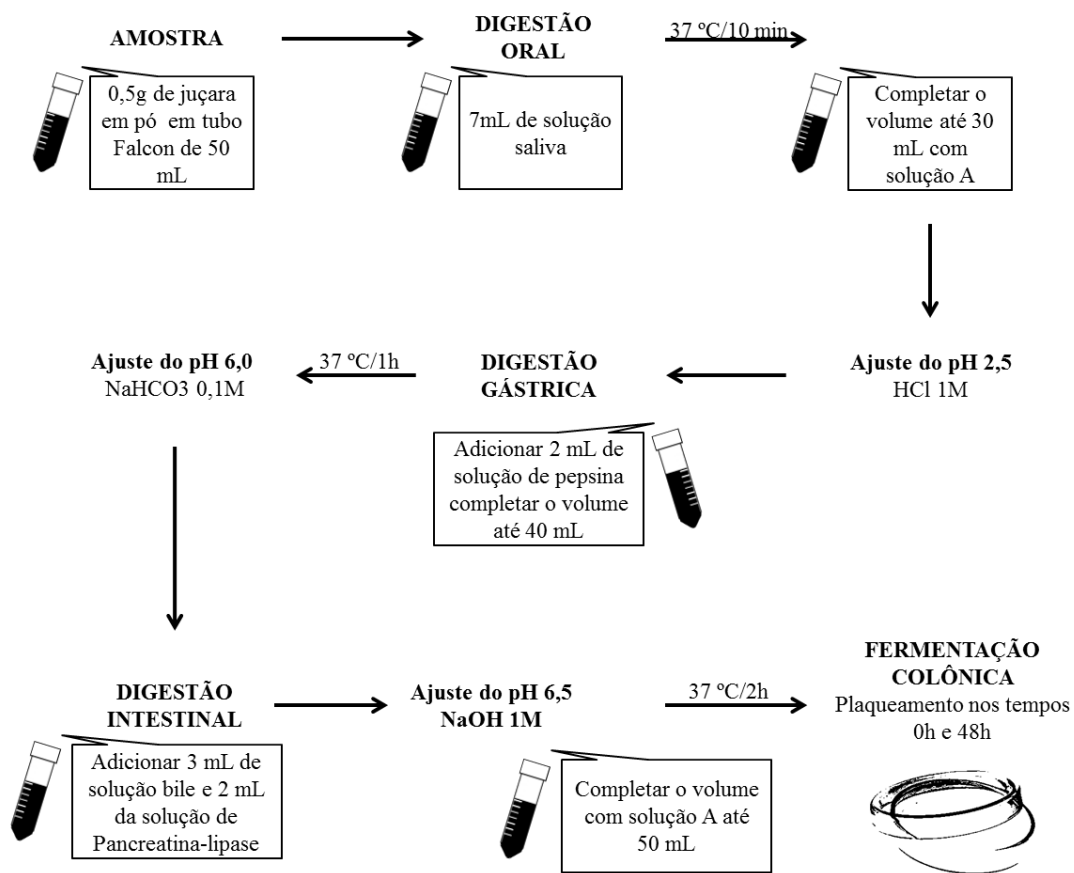


Figura 1 – Procedimentos realizados para a realização da digestão gastrointestinal *in vitro*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação dos compostos bioativos do pó de juçara durante a digestão e fermentação por bactérias colônicas

Para avaliar o comportamento dos compostos bioativos da juçara durante a digestão e fermentação colônica, o teor de antocianinas, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante foram determinados na amostra inicial em todas as etapas da digestão, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante da amostra de juçara submetida à simulação da digestão humana *in vitro*.

Amostras	Análises realizadas*		
	Fenólicos mg/100 g	Antocianinas mg cianidina 3- glucosideo/100 g	ABTS µmol de Trolox/g
Pó de juçara	14.084,65±521,08	6.970,40±86,27	845,43±44,77
Fase oral	7.792,40±47,31	745,42±0,49	558,37±12,18
Fase gástrica	13.719,76±270,36	2.021,53±0,09	1.348,44±95,30
Fase intestinal I (intestino delgado)	15.640,37±264,35	1.693,31±0,06	1.553,15±137,95
Fase intestinal II (intestino grosso T48h)	56.047,81±698,52	1.196,16±78,79	3.232,17±170,06

Legenda: * valores são médias com desvio padrão (n = 3).

Na fase oral, aproximadamente 10% do teor de antocianinas foi detectado após a digestão e, após a fase gástrica, em torno de 30% do teor inicial de antocianinas estava presente. No entanto, após a fase intestinal I (intestino delgado) e intestinal II (intestino grosso) as antocianinas foram reduzidas a 24% e 17%, respectivamente, em comparação com a amostra inicial.

Essas alterações de concentração possivelmente se devem a menor estabilidade das antocianinas ao pH elevado do intestino delgado, conforme também reportado por McDougall, *et al.* (2007) e Guergoletto *et al.* (2016) em estudos de simulação gastrointestinal humana. Como na fase gástrica o pH fica entorno de 2, as antocianinas predominam na forma cátion flavilium, que apresenta coloração intensamente avermelhada, já no pH do intestino delgado, o equilíbrio é deslocado para transformação de chalconas, que são incolores (Bordignon Jr *et al.*, 2009).

O comportamento dos compostos fenólicos também foi observado ao longo da digestão (Tabela 1). Apesar da redução do teor de antocianinas, os compostos fenólicos aumentaram após a digestão da juçara, sendo estes importantes compostos com elevada capacidade antioxidante, que poderiam atingir o cólon. As alterações no teor de compostos fenólicos e antocianinas aumentaram a capacidade antioxidante no intestino grosso, após a fermentação (Tabela 1).

Segundo Guergoletto *et al.* (2016), compostos que não são degradados na digestão humana podem ser usados para o crescimento de bactérias benéficas. Possivelmente, o processo de digestão afetou a capacidade antioxidante devido ao aumento do teor de compostos fenólicos ou devido à modificação das antocianinas em diferentes formas estruturais, ocasionadas por reações no próprio ambiente gastrointestinal ou devido ao metabolismo da microbiota colônica. Ao contrário do presente estudo Schulz *et al.* (2017) observaram perda da capacidade antioxidante (55-78%) após digestão gastrointestinal *in vitro* de frutos de juçara.

3.2 Alterações nas populações bacterianas após fermentação em cultura *in vitro*

A simulação do processo de fermentação microbiana que ocorre no intestino grosso tem por objetivo determinar a influencia desses compostos na modulação da microbiota. Após a fermentação colônica do pó de juçara por 48 h pelo método de simulação estática da digestão, houve um aumento do número de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium*, exceto para a *Escherichia coli* que apresentou uma redução da população (Tabela 2). O aumento dos grupos bacterianos mostrou que a microbiota anaeróbia estava estável em nosso sistema, e poderia fermentar os substratos presentes, entretanto um comportamento de crescimento semelhante foi observado para o

controle. Apesar da concentração de antocianinas e compostos fenólicos maior que a relatada na literatura (McDougall, *et al.*, 2007; Guergoletto *et al.*, 2016) esses compostos não alteraram o crescimento bacteriano, o que diverge do relatado por Guergoletto *et al.* (2016) que com menores concentrações de compostos bioativos obtiveram modulação da microbiota colônica. Não foi observada diferença na produção de gás amônio após 48h de fermentação, comparando-se ao controle, o que corrobora os resultados encontrados para o crescimento bacteriano.

Tabela 2 – Contagem microbiana após a digestão pelo intestino delgado e produção de gás amônio.

Amostras	Contagem microbiana e produção de gás amônio*				Gás amônio mg/L
	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Escherichia</i>	
Controle (T0h)	<1,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	1,7 x 10 ⁶ UFC g ± 0,00	5,2 x 10 ⁶ UFC g ± 0,00	<1,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	-
Controle (T48h)	6,7 x 10 ⁷ UFC g ± 0,00	3,3 x 10 ⁷ UFC g ± 0,00	5,9 x 10 ⁷ UFC g ± 0,00	7,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	51,20 ±0,00
Juçara (T0h)	<1,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	1,6 x 10 ⁶ UFC g ± 29,46	4,3 x 10 ⁶ UFC g ± 3,61	1,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	-
Juçara (T48h)	6,7 x 10 ⁶ UFC g ± 1,15	4,0 x 10 ⁷ UFC g ± 40,65	2,7 x 10 ⁷ UFC g ± 10,12	<1,0 x 10 ⁴ UFC g ± 0,00 est.	51,10 ±3,68

Legenda: * valores são médias com desvio padrão (n = 3), - análise não realizada.

4. CONCLUSÕES

Este estudo fornece informações relevantes sobre o comportamento das antocianinas e compostos fenólicos totais ao longo da simulação da digestão e fermentação colônica, sendo observada uma redução na bioacessibilidade das antocianinas e aumento de compostos fenólicos totais ao longo da digestão. Não foi possível observar alteração no crescimento microbiano das espécies estudadas, no intervalo de 48h de avaliação. Estudos com avaliações de fermentações mais longas estão em andamento. Ainda (?), também encontram-se em andamento análises químicas no que diz respeito aos metabólitos gerados por meio da fermentação.

Agradecimentos

A Embrapa Agroindústria de Alimentos, a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), a CAPES e ao CNPq pela concessão de bolsas de estudo.

5. REFERÊNCIAS

- Bicudo, M. O. P., J6, J., Oliveira, G. A. de, Chaimsohn, F. P., Sierakowski, M. R., Freitas, R. A. de, & Ribani, R. H. (2015). Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) Pulp by Spray Drying Using Different Carriers and Drying Temperatures. *Drying Technology*, 33, 153-161.
- Bordignon Jr, C. L., Francescato, V., Nienow, A. A., Calvete, E., Reginatto, F. H. (2009). Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 29(1): 183-188.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. (2008). *Instrução Normativa nº 06, de 23 de setembro de 2008. Define a Lista Oficial da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção*. Diário Oficial da União.

- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & AMIOT, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Gião, M., Gomes, S., Madureira, A., Faria, A., Pestana, D., Calhau, C., Pintado, M., Azevedo, I., & Malcata, F. (2012). Effect of *in vitro* digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of *Agrimonia eupatoria*, *Rubus idaeus*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. *Food Chemistry*, 131, 761-767.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad, R.E. (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, New York: Wiley.
- Guergoletto, K. B., Costabile, A., Flores, G., Garcia, S., & Gibson, G. R. (2016). *In vitro* fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, 196, 251-258.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, 61, 01-21.
- Lacerda, E. C. Q., Calado, V. M. de A., Monteiro, M., Finotelli, P. V., Torres, A. G., & Perrone, D. (2016). Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of juçara pulp microparticles. *Carbohydrate Polymers*, 151, 500-510.
- McDougall, G. J., Fyffe, S., Dobson, P., & Stewart, D. (2007) Anthocyanins from red cabbage – stability to simulated gastrointestinal digestion. *Phytochemistry*, 68, 1285-1294.
- Moreira, R. M., Martins, M. L., Leite Júnior, B. R. de C., Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Cristianini, M., Campos, A. N. da R., Stringheta, P. C., Silva, V. R. O., Canuto, J. W., Oliveira, D. C. de, & Pereira, D. C. de S. (2017). Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. *LWT - Food Science and Technology*, 77, 259-268.
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Edible berries: Review on bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30, 134-144.
- Pereira, D. C. de S., Campos, A. N. da R., Martins, M. L., & Martins, E. M. F. (2018). Extração de compostos bioativos dos frutos da juçara: o açaí da mata atlântica. *Higiene Alimentar*, 32.
- Pereira, D. C. de S., Campos, A. N. da R., Martins, M. L., & Martins, E. M. F. (2017). *Frutos da palmeira-juçara: contextualização, tecnologia e processamento*. 1. ed. Rio Pomba, MG: IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121, 996-1002.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goni, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101, 492-501.
- Schulz, M., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Borges, G. da S. C., Vitali, L., Micke, G. A., Gois, J. S., de Almeida, T. S. de, Borges, D. L. G., Miller, P. R. M., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 228, 447-454.
- Sengul, H., Surek, E., & Nilufer-Erdil, D. (2014). Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punica granatum*) phenolics and anthocyanins using an *in-vitro* gastrointestinal digestion model. *Food Research International*, 62, 1069-1079.

- Sigurdson, G. T., Tang, P., & Giusti, M. M. (2017). Natural colorants: food colorants from natural sources. *Annual Review of Food Science and Technology*, 08, 261-280.
- Silván, J. M., Reguero, M., & De Pascual-Teresa, S. (2016). A protective effect of anthocyanins and xanthophylls on UVB-induced damage in retinal pigment epithelial cells. *Food and Function*, Paper View Article Online.
- Silva, P. I., Stringheta, P. C., Teófilo, R. F., & Oliveira, I. R. N. de. (2013). Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering*, 117, 538-544.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Sipahli, S., Mohanlall, V., & Mellem, J. J. (2017). Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from *H. sabdariffa*. *Food Science and Technology*, 37, 209-215.
- Tuohy, K. M., Conterno, L., Gasperotti, M., & Viola, R. (2012). Up-regulating the Human Intestinal Microbiome Using Whole Plant Foods, Polyphenols, and/or Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 8776-8782.