

A Produção do Conhecimento nas **Ciências** da **Saúde**

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2019

Benedito Rodrigues da Silva Neto

(Organizador)

A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P964 A produção do conhecimento nas ciências da saúde [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde; v. 1)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-298-2

DOI 10.22533/at.ed.982193004

1. Abordagem interdisciplinar do conhecimento. 2. Saúde – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. II. Série.

CDD 610.7

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Com grande entusiasmo apresentamos o primeiro volume da coleção “A Produção do Conhecimento nas Ciências da Saúde”. Um trabalho relevante e sólido na área da saúde composto por atividades de pesquisa desenvolvidas em diversas regiões do Brasil.

Tendo em vista a importância dos estudos à nível microbiológico, para o avanço do conhecimento nas ciências da saúde, reunimos neste volume informações inéditas apresentadas sob forma de trabalhos científicos que transitam na interface da importância da microbiologia à nível clínico, patológico, social, ergonômico e epidemiológico.

Com enfoque direcionado às análises, avaliações, caracterização e determinantes ambientais, parasitológicos e econômicos, a obra apresenta dados substanciais de informações que ampliarão o conhecimento do leitor e que contribuirão com a formação e possíveis avanços nos estudos correlacionados às temáticas abordadas.

O interesse cada vez maior em conhecer e investigar no ambiente novos focos parasitários tem como base transformações provocadas por mudanças econômicas ou sociais, urbanização crescente, tratamentos e descartes inadequados de antibióticos, que propiciam aparecimento de novos focos. Assim, dados obtidos em diferentes locais sobre diferentes condições ambientais ou de desenvolvimento microbiano/ parasitário são relevantes para atualização do conhecimento sobre mecanismos de ação do agente patológico assim como diagnóstico e tratamento eficaz.

Uma vez que a interdisciplinaridade tem sido palavra chave nas ciências da saúde observaremos aqui um fio condutor entre cada capítulo que ampliará nossos horizontes e fomentará propostas de novos trabalhos científicos.

Assim, o conteúdo de todos os volumes é significativo não apenas pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, mas também pela capacidade de professores, acadêmicos, pesquisadores, cientistas e da Atena Editora em produzir conhecimento em saúde nas condições ainda inconstantes do contexto brasileiro. Desejamos que este contexto possa ser transformado a cada dia, e o trabalho aqui presente pode ser um agente transformador por gerar conhecimento em uma área fundamental do desenvolvimento como a saúde.

Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE JAMBU (<i>Spilanthes oleracea</i> L.) MINIMAMENTE PROCESSADO	
Laiane Cristina Freire Miranda Fernanda Rafaela Santos Sousa Alessandra Eluan da Silva Bielly Yohanne Pereira Costa Ana Carla Alves Pelais	
DOI 10.22533/at.ed.9821930041	
CAPÍTULO 2	9
PRESENÇA DE MICROFILÁRIAS DO GÊNERO LITOMOSOIDES (<i>Nematoda: onchocercidae</i>) EM MORCEGOS (<i>Chiroptera: phyllostomidae</i>)	
Juliane da Silva Nantes Maria Clara Bomfim Brigatto Edvaldo dos Santos Sales Érica Verneque Martinez Marcelo Bastos de Rezende Jania Rezende Felipe Bisaggio Pereira Daniele Bier Carina Elisei De Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.9821930042	
CAPÍTULO 3	18
A CONTRIBUIÇÃO DA EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA AGRICULTURA URBANA E PERIURBANA NO BRASIL	
Ernane Raimundo Maurity	
DOI 10.22533/at.ed.9821930043	
CAPÍTULO 4	29
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE POLPAS DE AÇAÍ VENDIDAS POR AMBULANTES NA CIDADE DE CUIABÁ – MT	
Ana Paula de Oliveira Pinheiro Eliane Ramos de Jesus James Moraes de Moura	
DOI 10.22533/at.ed.9821930044	
CAPÍTULO 5	38
ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE DRAGEADOS DE SOJA [<i>Glycine max</i> (L.)] COM COBERTURA CROCANTE, SALGADA E SEM GLÚTEN	
Lúcia Felicidade Dias Isabel Craveiro Moreira Andrei Thais Garcia Bortotti Sumaya Hellu El Kadri Nakayama Deivid Padilha Schena	
DOI 10.22533/at.ed.98219300445	

CAPÍTULO 6 47

AS LEISHMANIOSES NOS MUNICÍPIOS QUE COMPÕEM A SUPERINTENDENCIA REGIONAL DE SAÚDE DE DIAMANTINA – MG

Ana Flávia Barroso
Maria da Penha Rodrigues Firmes
Daisy de Rezende Figueiredo Fernandes
Carolina Di Pietro Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.98219300446

CAPÍTULO 7 62

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS OBTIDOS DAS FRUTAS *Theobroma grandiflorum* E *Mauritia flexuosa*

George Barros Chaves
Gabrielle Damasceno Evangelista Costa
Maria Clara Caldas Costa
Yasmim Costa Mendes
Gabrielle Pereira Mesquita
Lívia Muritiba Pereira de Lima Coimbra
Luís Cláudio Nascimento da Silva
Adrielle Zagnignan

DOI 10.22533/at.ed.98219300447

CAPÍTULO 8 75

AVALIAÇÃO DE DISTÚRBIOS PULMONARES E MUDANÇA NAS ATIDADES DIÁRIAS EM TRABALHADORES CANAVIEIROS EM RUBIATABA-GO

Menandes Alves de Souza Neto
Jéssyca Rejane Ribeiro Vieira
Juliana Aparecida Correia Bento
Suellen Marçal Nogueira
Luiz Artur Mendes Bataus
Luciano Ribeiro Silva

DOI 10.22533/at.ed.98219300448

CAPÍTULO 9 86

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE COMPÓSITOS OBTIDOS A PARTIR DE PEEK/CaCO₃

Mayelli Dantas de Sá
José William de Lima Souza
Michele Dayane Rodrigues Leite
José Filipe Bacalhau Rodrigues
Hermano de Vasconcelos Pina
Marcus Vinicius Lia Fook

DOI 10.22533/at.ed.98219300449

CAPÍTULO 10 98

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE PRODUTO TIPO CAVIAR DEFUMADO PROVENIENTE DA TRUTA ARCO-ÍRIS (*Onchorynchus mykiss*)

André Luiz Medeiros de Souza
Flávia Aline Andrade Calixto
Frederico Rose Lucho
Marcos Aronovich
Eliana de Fátima Marques de Mesquita

DOI 10.22533/at.ed.982193004410

CAPÍTULO 11 103

AVALIAÇÃO DO TESTE RÁPIDO PARA DETECÇÃO DO VÍRUS HIV EM APARECIDA DE GOIÂNIA – GO

Mariley Gomes da Silva Lucas

Alexander Itria

DOI 10.22533/at.ed.982193004411

CAPÍTULO 12 117

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS HIGIÊNICO-SANITÁRIOS DA COMERCIALIZAÇÃO DE PESCADO “IN NATURA” NO MERCADO DE PEIXES DO VER-O-PESO NO MUNICÍPIO DE BELÉM, PARÁ

Sheylle Marinna Martins Garcia

Nathalia Rodrigues Cardoso

Malena Marília Martins Gatinho

DOI 10.22533/at.ed.982193004412

CAPÍTULO 13 126

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE NUGGETS DE FRANGO ENRIQUECIDO COM B-GLUCANA

Evellin Balbinot-Alfaro

Karen Franzon

Kari Cristina Pivatto

Alexandre da Trindade Alfaro

Cristiane Canan

DOI 10.22533/at.ed.982193004413

CAPÍTULO 14 136

DETERMINING CONTAMINANTS IN MINCED MEAT FROM BUTCHERIES IN CUIABÁ AND VÁRZEA GRANDE – MT

Luan Stewart de Paula Jales de Oliveira

James Moraes de Moura

Alan Tocantins Fernandes

DOI 10.22533/at.ed.982193004414

CAPÍTULO 15 144

EPIDEMIOLOGIA DO HPV (PAPILOMAVÍRUS HUMANO) EM ADOLESCENTES, NA CIDADE DE ARAÇATUBA-SP

Mayara Pepece Brassioli

Gislene Marcelino

Rossana Abud Cabrera-Rosa

Juliane C.T. Sanches

Natalia Félix Negreiros

DOI 10.22533/at.ed.982193004415

CAPÍTULO 16 153

INFECÇÃO SIMULTÂNEA POR MORBILIVÍRUS CANINO E ADENOVÍRUS EM UM MÃO-PELADA (*Procyon cancrivorus*)

Mariana de Mello Zanim Michelazzo

Nayara Emily Viana

Zalmir Silvino Cubas

Selwyn Arlington Headley

DOI 10.22533/at.ed.982193004416

CAPÍTULO 17	156
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: EPIDEMIOLOGIA DA FORMA MUCOSA NO ESTADO DO TOCANTINS NO PERÍODO DE 2011 A 2015	
Bruna Silva Resende	
Ana Livia Fonseca Ferreira	
Fernanda da Silva Ferreira	
Joandson dos Santos Souza	
Deyse Sabrinne de Souza Lopes	
Carina Scolari Gosch	
DOI 10.22533/at.ed.982193004417	
CAPÍTULO 18	173
MICROBIOLOGICAL AND HUMIDITY ASSESSMENT OF BEANS GRAINS MARKETED IN THE MARKET OF PORTO, CUIABÁ - MT	
Gabriela Campos Caxeiro	
James Moraes de Moura	
Daniela Fernanda Lima de Carvalho Cavenaghi	
Alan Tocantins Fernandes	
DOI 10.22533/at.ed.982193004418	
CAPÍTULO 19	183
OPTIMIZATION OF HYDROALCOHOLIC EXTRACTION OF CRUDE GUARANA SEEDS: PHENOLIC CONSTITUENTS, METHYLYXANTHINES AND ANTIOXIDANT CAPACITY	
Ádina Lima de Santana	
Gabriela Alves Macedo	
DOI 10.22533/at.ed.982193004419	
CAPÍTULO 20	197
PERFIL DE SENSIBILIDADE DE STAPHYLOCOCCUS SPP. ENTEROCOCCUS SPP. E ESCHERICHIA COLI ISOLADOS DE MUÇARELA A ANTIBIÓTICOS DE USO FARMACÊUTICO	
Juliana dos Santos Loria de Melo	
Carolina Riscado Pombo	
DOI 10.22533/at.ed.982193004420	
CAPÍTULO 21	205
PERFIL DE SENSIBILIDADE DE <i>Staphylococcus</i> SPP. <i>Enterococcus</i> SPP. E ESCHERICHIA COLI ISOLADOS DE SALSICHA A ANTIBIÓTICOS DE USO FARMACÊUTICO	
Juliana dos Santos Loria de Melo	
Carolina Riscado Pombo	
DOI 10.22533/at.ed.982193004421	
CAPÍTULO 22	213
POTENCIAL PRODUÇÃO DE BIOMATERIAL PELA CIANOBACTÉRIA AMAZÔNICA <i>Tolypothrix</i> SP. CACIAM 22	
Diana Gomes Gradíssimo	
Murilo Moraes Mourão	
Samuel Cavalcante do Amaral	
Alex Ranieri Jerônimo Lima	
Evoonildo Costa Gonçalves	
Luciana Pereira Xavier	
Agenor Valadares Santos	
DOI 10.22533/at.ed.982193004422	

CAPÍTULO 23 225

PRODUÇÃO DE LIPASE POR *Yarrowia lipolytica* PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Jully Lacerda Fraga
Adejanildo da Silva Pereira
Fabiane Ferreira dos Santos
Kelly Alencar Silva
Priscilla Filomena Fonseca Amaral

DOI 10.22533/at.ed.982193004423

CAPÍTULO 24 230

QUALIDADE DA FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta Crantz*) EM COMUNIDADE TRADICIONAL DO MUNICÍPIO DE MACAPÁ-AP

Lia Carla de Souza Rodrigues
Roberto Quaresma Santana
Jorge Emílio Henriques Gomes
Marília de Almeida Cavalcante

DOI 10.22533/at.ed.982193004424

CAPÍTULO 25 236

QUANTIFICAÇÃO DE TMA EM CARANHAS DESCONGELADAS E RECONGELADAS POR RMN DE ¹H

Vinícius Silva Pinto

DOI 10.22533/at.ed.982193004425

CAPÍTULO 26 248

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS A PARTIR DE FRUTAS E HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS EM CAPANEMA, PARÁ

Suania Maria do Nascimento Sousa
Cintya de Oliveira Souza
Fagner Freires de Sousa
Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Hellen Kempfer Philippsen

DOI 10.22533/at.ed.982193004426

CAPÍTULO 27 259

USO DE FERMENTAÇÃO POR LACTOBACILOS PARA AUMENTO DAS CARACTERÍSTICAS ANTIOXIDANTES DE *Theobroma grandiflorum*

Amanda Caroline de Souza Sales
Brenda Ferreira de Oliveira
Hermerson Sousa Maia
Warlison Felipe de Silva Saminez
Tiago Fonseca Silva
Rita de Cássia Mendonça de Miranda
Adrielle Zagmignan
Luís Cláudio Nascimento da Silva

DOI 10.22533/at.ed.982193004427

CAPÍTULO 28 276

VIGILÂNCIA DE EPIZOOTIAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS (PNH) ENTRE 2015

A 2017 NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

Danielle Domingos da Silva

Durval Moraes da Silva

Cintia de Sousa Higashi

Fabiola de Souza Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.982193004428

SOBRE O ORGANIZADOR..... 284

USO DE FERMENTAÇÃO POR LACTOBACILOS PARA AUMENTO DAS CARACTERÍSTICAS ANTIOXIDANTES DE *Theobroma grandiflorum*

Amanda Caroline de Souza Sales

Universidade CEUMA, Curso de Biomedicina.
São Luís, Maranhão.

Brenda Ferreira de Oliveira

Universidade CEUMA, Curso de Biomedicina.
São Luís, Maranhão.

Hermerson Sousa Maia

Universidade CEUMA, Curso de Biomedicina.
São Luís, Maranhão.

Warlison Felipe de Silva Saminez

Universidade CEUMA, Curso de Biomedicina.
São Luís, Maranhão.

Tiago Fonseca Silva

Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia.
Recife, Pernambuco.

Rita de Cássia Mendonça de Miranda

Universidade CEUMA, Programa de Pós-graduação em Meio Ambiente e Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (REDE BIONORTE).
São Luís, Maranhão.

Adrielle Zigmignan

Universidade CEUMA, Curso de Nutrição e Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (REDE BIONORTE).
São Luís, Maranhão.

Luís Cláudio Nascimento da Silva

Universidade CEUMA; Curso de Biomedicina, Programa de Pós-graduação em Biologia Microbiana e Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (REDE

BIONORTE).

São Luís, Maranhão.

RESUMO: Probióticos são microrganismos vivos, não patogênicos, que estão associados a diversos benefícios à saúde do hospedeiro. Deste modo, o desenvolvimento de produtos contendo probióticos é de suma importância, e os sucos de frutas têm sido apontados como veículos alternativos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da fermentação utilizando lactobacilos (*Lactobacillus fermentum* ATCC 23271 ou *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595) na atividade antioxidante do suco de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). Inicialmente foram determinadas quais as melhores combinações de quantidades de polpa e concentração inicial de inóculo (densidade óptica a 630 nm; DO_{630nm}) para promover o crescimento de cada lactobactéria. A viabilidade bacteriana foi aferida após 48 horas de fermentação. Conforme os resultados encontrados, as melhores condições de cultivo foram encontradas no experimento 6 ($DO_{630nm} = 3,0$; 120 mg/mL de polpa). Utilizando estes parâmetros foram realizadas novas fermentações e após 48 horas foi realizada extração líquido-líquido utilizando acetato de etila. O suco não fermentado foi utilizado como controle. Foi observado que ambas fermentações lácticas aumentaram

os conteúdos de compostos fenólicos e flavonoides, assim como a capacidade de inibir os radicais DPPH (2,2- difenil-1- picrilhidrazilo) e ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]. Os melhores resultados antioxidantes foram encontrados com o extrato obtido do suco fermentado por *L. rhamnosus* ATCC 9595. Em conjunto, os resultados demonstram que a fermentação com *L. fermentum* ATCC 23271 ou *L. rhamnosus* ATCC 9595 é uma ferramenta eficaz no aumento do potencial antioxidante do suco de cupuaçu. Estes achados fornecem novas perspectivas para aplicação deste suco para o desenvolvimento de alimentos probióticos.

PALAVRAS-CHAVE: Suco de Fruta. Cupuaçu. Compostos Fenólicos. Espécies Reativas.

ABSTRACT: Probiotics are living, non-pathogenic microorganisms that are associated with various health benefits of the host. Thus, the development of products containing probiotics is of paramount importance, and fruit juices have been highlighted as alternative vehicles. The objective of this research was to evaluate the effect of the fermentation using lactobacilli (*Lactobacillus fermentum* ATCC 23271 or *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595) on the antioxidant activity of Cupuaçu juice (*Theobroma grandiflorum*). Initially, the best combinations of pulp and initial inoculum concentrations (optical density at 630 nm; OD_{630nm}) were determined to promote the growth of each bacteria. The bacterial viability was measured after 48 hours of fermentation. According to the results, the best cultivation conditions were found in Experiment 6 (OD_{630nm} = 3.0, 120 mg/mL pulp). Using these parameters, new fermentations were carried out and after 48 hours liquid-liquid extraction was carried out using ethyl acetate. Unfermented juice was used as control. It was observed that both lactic fermentations increased the contents of phenolic compounds and flavonoids, as well as the ability to inhibit the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] radicals. The best antioxidant results were found with the extract obtained from the juice fermented by *L. rhamnosus* ATCC 9595. Together, the results demonstrate that the fermentation with *L. fermentum* ATCC 23271 or *L. rhamnosus* ATCC 9595 is an effective tool for increase the antioxidant potential of cupuaçu juice. These findings provide new perspectives for the application of this juice to the development of probiotic foods.

KEYWORDS: Fruit juice. Cupuaçu. Phenolic Compounds. Reactive Species.

1 | INTRODUÇÃO

Probióticos, é um termo definido como microrganismos vivos não patogênicos que consumidos em doses adequadas, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro atuando na prevenção ou tratamento de determinadas doenças. Como integrante dos alimentos funcionais tem benefícios como, capacidade de sobreviver ao trato gastrointestinal, inibir a proliferação de patógenos e estimular a resposta imune do hospedeiro (DE SOUZA et al., 2018).

Dentre as bactérias probióticas, espécies do gênero *Lactobacillus* têm se destacado graças ao seu potencial terapêutico que incluem o tratamento de infecções vaginais e intestinais (RODRÍGUEZ-NOGALES et al., 2017; MARTINS; SILVA; NICOLI, 2018). Trata-se de microrganismos Gram-positivos, anaeróbios facultativos que são encontrados no trato gastrointestinal, boca, leite materno e na vagina (BOND; MORRIS; NASSAR, 2017; OUARABI et al., 2017; VERCE; DE VUYST; WECKX, 2018). Estudos têm demonstrado que produtos lácteos fermentados por *Lactobacillus* spp. são eficientes no combate de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, distúrbios inflamatórios, dislipidemias e diabetes, além de ter efeito anti-obesidade (YADAV et al., 2018).

A fermentação láctica de produtos alimentícios é uma alternativa interessante e bastante aplicada para a obtenção de produtos diferenciados. Tradicionalmente, os produtos enriquecidos com probióticos são leites fermentados e iogurtes, sendo estes consumidos em todo o mundo (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016). Entretanto, apesar da fermentação láctica estar muito mais frequentemente associada ao leite, ela também pode ser realizada a partir de outros substratos, como as polpas de frutas, desde que possuam açúcares fermentáveis em suas composições (DI CAGNO et al., 2013). Existe uma demanda crescente para produtos probióticos não lácteos, atendendo principalmente os consumidores que apresentam prevalência de alergia a produtos lácteos e intolerância à lactose, e as necessidades do crescente mercado vegetariano (KUMAR; VIJAYENDRA; REDDY, 2016; NEMATOLLAHI et al., 2016). Neste contexto, os sucos de frutas devido ao alto valor nutricional são apontados como uma alternativa interessante para o desenvolvimento de bebidas fermentadas com probióticos (DI CAGNO et al., 2013; FARIAS; SOARES; GOUVEIA, 2016; NEMATOLLAHI et al., 2016; SANTOS; ANDRADE; GOUVEIA, 2017).

Os sucos de frutas são ricos em vitaminas e minerais, sendo ideais tanto para a fermentação, quanto para o seu consumo. Além disso, apresentam alguns ácidos importantes, como o cítrico, que funciona como acidulante, e o málico, por possuir características organolépticas (FARIAS; SOARES; GOUVEIA, 2016). No Brasil, há uma grande quantidade de frutas tropicais com sabores exóticos e atrativos ao consumidor (FARIAS, 2016). Dentre elas temos o Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), encontrada no noroeste do Maranhão e em outras regiões, que é uma fruta de grande potencial comercial, devido à sua polpa aromática, seu teor de acidez e seu gosto muito agradável. Seu valor nutricional encontra-se na polpa, sendo utilizada para a elaboração de diferentes produtos como sorvete, creme, torta, suco, licores (GALVÃO et al., 2017).

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da fermentação utilizando as cepas do gênero *Lactobacillus* (*L. rhamnosus* ATCC 9595 ou *L. fermentum* ATCC 23271) na atividade antioxidante do suco de *T. grandiflorum*. Para isto, foram inicialmente avaliadas as melhores condições de fermentação que propiciaram uma maior sobrevivência da bactéria no suco, e após, foram realizadas as

avaliações comparativas do conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides e da ação antioxidante em extratos obtidos a partir dos sucos fermentados e não fermentados.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção e Ativação dos Microrganismos

As linhagens de bactérias (*L. fermentum* ATCC 23271 ou *L. rhamnosus* ATCC 9595) utilizadas neste estudo foram obtidas da Bacterioteca da Universidade Ceuma. Cada linhagem foi ativada em caldo de MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) incubada por 24h a 37°C para atingir a absorvância de 0,600. correspondente a 10⁹ UFC/mL na escala de MacFarland.

2.2 Amostra e Preparo do Suco de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)

O fruto de cupuaçu (*T. grandiflorum*) foi coletado na cidade de São Luís do Maranhão. Foi lavado, cortado manualmente com faca de aço inoxidável, em seguida processado no liquidificador para a obtenção da polpa que foi armazenada para uso futuro. Em cada experimento, uma determinada quantidade de polpa, foi dissolvida em 250 mL de água destilada e o pH foi ajustado para 6,0. Cada suco foi submetido à autoclavagem.

2.3 Fermentação com lactobacilos

Para a fermentação foi preparado um pré-inóculo de cada lactobacilo em caldo MRS (De Man, Rogosa & Sharpe) a 37 °C por agitação (120 rpm). Após 24 h, alíquotas de 1 mL da suspensão de *L. rhamnosus* ATCC 9595 (nas concentrações mostradas na tabela 1) foram inoculadas nos sucos, nove combinações de diferentes quantidades de polpa e concentração de inóculo (determinado por densidade ótica a 630 nm; DO₆₃₀) para determinar as melhores condições de crescimento bacteriano.

Experimento	Densidade do inóculo (DO _{630nm})	Concentração da polpa (mg/mL)
1	0,1	40
2	2,1	64,6
3	0,1	175,4
4	2,1	200
5	1,0	40
6	3,0	120
7	1,55	40
8	1,55	200
9	1,55	120

Tabela 1: Valores das concentrações do inóculo bacteriano e quantidade de polpa de T.

2.4 Quantificações da Viabilidade Celular e Determinação do pH

A quantificação da viabilidade celular foi realizada pelo plaqueamento da bactéria, onde foram feitas as diluições seriadas em solução salina 0,9% (m/v), contendo bactérias e essas diluições foram plaqueadas em placa de Petri contendo meio ágar MRS e em seguida incubadas por 48h a 37°C.

2.5 Extração Líquido-Líquido

Após a determinação das melhores condições de crescimento bacteriano, foi realizado um processo de extração líquido-líquido para obtenção das substâncias antioxidantes. Para isso, foram adicionados 50 mL de acetato de etila a 50 mL de cada amostra de suco. Após 24 horas, as fases contendo o solvente foram recuperadas e submetidas à secagem. Os extratos obtidos foram armazenados para posterior uso.

2.6 Dosagem de Compostos Fenólicos

A metodologia seguiu o proposto por McDonald et al. (2001). Utilizando 200 μ L das amostras (concentração de 1000 μ g/mL) foram adicionadas em tubos de ensaio e 1,0 mL de reagente de Folin-Ciocalteu. Transcorrido três minutos, adicionou-se 800 μ L de carbonato de sódio (7,5%). A mistura foi incubada à temperatura ambiente, em ambiente escuro e em repouso durante 2 horas. Em seguida as amostras tiveram suas absorvâncias medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda 735 nm. A quantidade de fenóis foi calculada em mg/g Equivalente de Ácido Gálico (EAG) da curva de calibração da solução padrão de ácido gálico. O procedimento foi realizado em Triplicata.

2.7 Dosagem de Flavonoides

A dosagem de flavonoides foi realizada pela metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998) com algumas modificações. Foram utilizados 100 μ L das amostras (concentração de 1000 μ g/mL) e misturadas com 100 μ L da solução reagente (2 g de Cloreto de Alumínio diluído em 100 mL da solução de etanol a 2%) em placa de 96 poços. A mistura foi deixada em temperatura ambiente incubada durante 60 min em ambiente escuro. A absorvância foi medida por espectrofotometria à 420 nm. A quantidade de flavonoides foi calculada em mg/g equivalente de Quercitina (EQ). O procedimento foi feito em Triplicata.

2.8 Ensaio DPPH

Neste ensaio a atividade de radical livre do extrato foi medida em termos de hidrogênio doado usando o DPPH radical estável (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; Sigma-Aldrich) (BLOIS, 1958). Uma alíquota de 250 μ L de solução de DPPH (1mM) foi

misturada com 40 μL de diferentes concentrações da amostra (31,25 – 1000 $\mu\text{g/mL}$). Vinte e cinco minutos mais tarde, a absorvância foi medida no leitor de Elisa a 517 nm. O Ácido Gálico foi utilizado como o composto de referência. A sequestradora de radicais livres foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$[\text{DPPH}] (\%) = (\text{Ac} - \text{Aa}) / \text{Ac} \times 100$$

Onde: Ac = controle de absorção; Aa = Absorvância da Amostra

2.9 Método do ABTS

Neste ensaio a atividade de radical livre da amostra foi medida em termos de hidrogênio doado usando o ABTS radical estável (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (REE et al., 1999). Foi utilizado 20 μL da amostra e 250 μL da solução reagente ABTS (30 mg do ABTS, 379,4 mg de persulfato de Potássio e 0,137 mL de solução de persulfato). E realizado leitura por espectrofotômetro (734 nm) após 6, 15, 30, 45, 60 e 120 minutos de incubação.

$$\text{Inibição} (\%) = (\text{Ac} - \text{Aa}) / \text{Ac} \times 100$$

Onde, Ac é absorvância do controle e Aa é absorvância da amostra.

2.10 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise por estatística descritiva, sendo expressos como média \pm desvio-padrão. A análise estatística foi realizada utilizando o software Graphpad Prism (versão 5.03), empregando-se a análise de variância (ANOVA) para determinar as diferenças entre as médias a um nível de significância $p < 0,05$. A determinação da IC50 (concentração capaz de inibir 50% do radical) foi realizada por regressão linear.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização das condições de Crescimento de *L. rhamnosus* ATCC 9595 e *L. fermentum* ATCC 23271 no meio à base de suco de *T. grandiflorum*

A primeira etapa do trabalho foi determinar as melhores condições de crescimento das duas linhagens de *Lactobacillus* no meio à base de *T. grandiflorum*. Foram realizados nove experimentos com diferentes concentrações de inóculo e quantidade de polpa (Tabela 1). Em relação aos resultados com *L. fermentum* ATCC 23271, foram encontrados os altos níveis de crescimento bacteriano (maiores que 13 Log CFU/mL) após 48 horas de cultivo em todas as condições testadas (Figura 1B), o que também foi evidenciado pela diminuição dos valores de pH (<4). Esta linhagem não foi capaz

de crescer nas condições do experimento 8.

Dentre as combinações avaliadas, os melhores resultados de crescimento foram encontrados no experimento 6 (20,30 Log CFU/mL), onde foram usadas alta densidade bacteriana como inóculo ($DO_{630nm} = 3,0$) em 120 mg/mL de polpa de *T. grandiflorum*. Esta condição apresentou valor de CFU superiores a todas as outras ($p < 0,05$). Valores elevados de crescimento de *L. fermentum* ATCC 23271 foram também encontrados nas condições dos experimentos 9 (18,91 Log CFU/mL), 7 (18,30 Log CFU/mL) que utilizaram uma densidade intermediária de inóculo ($DO_{630nm} = 1,55$) combinada com 120 mg/mL e 40 mg/mL de polpa. Nos experimentos 2 e 3 foram detectados índices de crescimento de 17,60 Log CFU/mL e 17,83 Log CFU/mL, respectivamente. Estes valores foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$), mesmo tendo sido utilizando valores bem diferentes de inóculo ($DO_{630nm} = 2,1$ e $0,1$) e polpa a adição de inóculo (64,6 mg/mL e 175,4 mg/mL). Em adição, os menores valores de CFU foram detectados no experimento 1 (aproximadamente 13 Log CFU/mL), como esperado neste experimento se utilizou as menores concentrações de polpa (10 g) e inóculo bacteriano menos denso ($DO_{630nm} = 0,1$). Todos estes dados apontam que as duas variáveis utilizadas em nosso estudo (concentração da polpa e do inóculo) afetam a taxa de crescimento de *L. fermentum* ATCC 23271.

L. rhamnosus ATCC 9595 foi capaz de crescer em todas as combinações testadas, alcançando índices de crescimento superiores a 12 log CFU/mL (Figura 1A). Em todas as condições avaliadas foi observada a diminuição dos valores de pH de 6 para 4, sugerindo que *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi capaz de crescer e produzir ácidos orgânicos (FARIAS; SOARES; GOUVEIA, 2016). É importante destacar ainda que estas altas taxas de crescimento foram obtidas sem a suplementação do suco, sendo apenas ajustado o valor de pH para 6,0.

Os melhores resultados foram observados nas condições do experimento 6 onde foram utilizadas 120 mg/mL de polpa de *T. grandiflorum* e a densidade inicial (630 nm) foi de 3,0 do inóculo de *L. rhamnosus* ATCC 9595. Nestas condições foi detectado um crescimento na ordem de 20 Log CFU/mL após 48 horas de cultivo, valor significativamente superior às outras condições (Figura 1A). Nos outros experimentos (8 e 9) que utilizaram as maiores concentrações de polpa (200 mg/mL e 120 mg/mL) associados com uma densidade média de inóculo ($DO_{630nm} = 1,55$) também foram observadas altas taxas de crescimento microbiano (aproximadamente 19 logs CFU/mL). Os menores índices de crescimento (aproximadamente 13 logs CFU/mL), por sua vez, foram obtidos nos experimentos 1 e 7 quando baixas quantidades de polpa foram utilizadas (40 mg/mL) em combinação com inóculo de densidade baixa ($DO_{630nm} = 0,1$, experimento 1) ou intermediária ($DO_{630nm} = 1,55$, experimento 1). Estes dados denotam que a concentração da polpa é um fator determinante para o crescimento do microrganismo, como esperado.

A polpa do cupuaçu tem característica ácida, sendo rica em compostos voláteis e sais minerais. Possui alto teor de pectina, fibras, ésteres (butanoato de etila e

hexanoato de etila), assim como de ácido ascórbico e de açúcares, assim contribui para o crescimento de microrganismos (MARTIM, 2012). Tais resultados corroboram com os de Farias, Soares e Gouveia, (2016) que encontraram uma alta viabilidade celular 8,78 Log UFC/mL, quando fermentou o suco de maracujá com *L. rhamnosus* ATCC 7469. Inicialmente, as concentrações celulares (0h) foram de 6,72 Log CFU/mL, 7,72 Log CFU/mL e 8,41 Log CFU/mL para os inóculos com 0,1%, 1% e 5% v/v, respectivamente. Ao final da fermentação, a viabilidade celular aumentou para 7,84 Log CFU/mL e 9,52 Log CFU/mL, nos inóculos de 0,1% e 1%, respectivamente, ficando praticamente constante no inóculo a 5% v/v, com 8,78 Log CFU/mL.

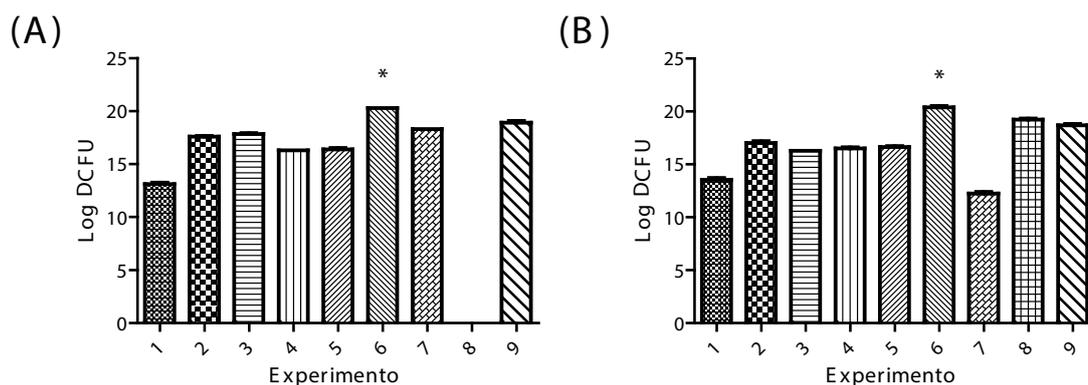


Figura 1: Otimização das condições de cultivos de crescimento de *L. fermentum* ATCC 23271 e *L. rhamnosus* ATCC 9595 em suco de *T. grandiflorum*. (*) Ensaio com maior crescimento bacteriano ($p < 0,05$).

Costa et al. (2013) e Fonteles et al. (2011) também obtiveram altas taxas de crescimento celular (8,34 e 8,98 Log CFU/mL, respectivamente), quando fermentaram suco de abacaxi e de melão utilizando o probiótico *L. casei*. Pereira et al. (2013) observaram viabilidade similar (8,3 Log CFU/mL) quando fermentaram suco de caju com *L. casei*. Os sucos de frutas podem apresentar ótimo veículo para incorporação de probióticos, dado que contêm quantidades elevadas de açúcares que estimulam seu crescimento.

3.2 A fermentação láctica aumentou o conteúdo de compostos fenólicos no suco de *T. grandiflorum*

De acordo com os resultados encontrados nos experimentos de crescimento bacteriano, as condições de cultivo utilizadas no experimento 6 ($DO_{630nm} = 3,0$ e 120 mg/mL de polpa) foram selecionadas para avaliação do efeito da fermentação láctica na ação antioxidante e teores de compostos fenólicos e flavonoides. Para tanto, após 48 horas de fermentação, os sucos foram submetidos à extração com acetato de etila.

A quantificação do conteúdo de fenólicos totais nos extratos dos sucos de *T. grandiflorum* fermentados ou não por *Lactobacillus* spp. são apresentados na Figura

2. Em ambos os casos foi observado aumento no teor destes compostos. Verificou-se que o extrato do suco fermentado por *L. fermentum* ATCC 23271 apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) nos níveis de compostos fenólicos ($11,20 \pm 0,71$ mg EAG/g), em relação ao extrato obtido do suco não fermentado ($7,94 \pm 0,71$ mg EAG/g). Este efeito também foi observado na fermentação utilizando *L. rhamnosus* ATCC 9595 que apresentou aumento na ordem de 2 vezes ($17,83 \pm 0,79$ mg EAG/g).

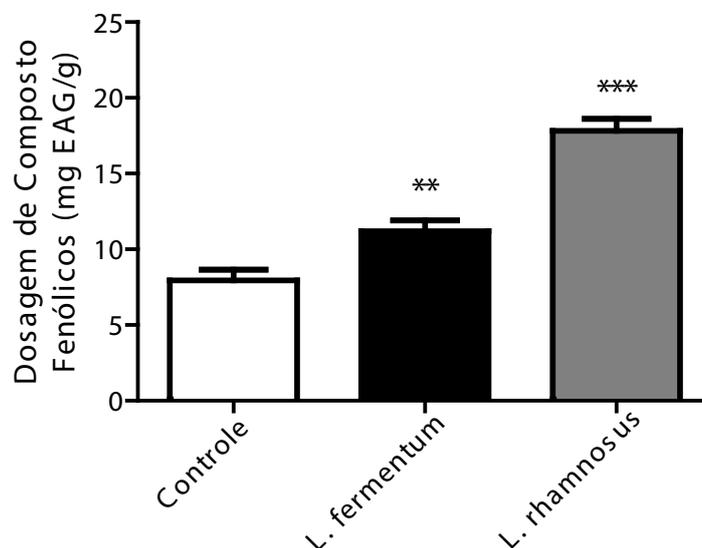


Figura 2: Quantificação de composto fenólico total nos sucos fermentado e não fermentado de *T. grandiflorum*. (*) Diferenças estatísticas em relação ao suco não fermentado ($p < 0,05$).

Os compostos fenólicos fazem parte do metabolismo secundário dos vegetais, participando de maneira importante na defesa da planta. Compostos dietéticos presentes em frutas e vegetais; seu consumo está associado a efeitos benéficos à saúde (ALMEIDA; SANTOS; VENTURA, 2017). Esses compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante, característica apontada como relevante para o retardamento do envelhecimento e prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo (SILVA, 2014; ROTHENBERG; ZHOU; ZHANG, 2018). De fato, diversos estudos têm demonstrado que a ingestão de compostos fenólicos é eficiente no controle da diabetes mellitus, hipertensão e dislipidemias (DIAS et al., 2016; MARTÍN-PELÁEZ et al., 2016; SANTANGELO et al., 2016; MARTÍN-PELÁEZ et al., 2017).

3.3 A fermentação láctica aumentou o conteúdo de flavonoides no suco de *T. grandiflorum*

Outra classe de compostos bioativos de grande relevância para a saúde humana são os flavonoides que são bem conhecidos graças ao potencial imunomodulador, anti-hipertensivo e antidiabético (ALKHALIDY; WANG; LIU, 2018; RIBEIRO et al., 2018; VARGAS et al., 2018). A administração oral de flavonoides previne ou melhora os efeitos adversos no rim do consumo elevado de frutose, dieta rica em gordura e

diabetes tipos I e 2. Esses compostos atenuam a função de barreira endotelial renal rompida pela hiperglicemia, a excreção urinária de microalbumina e a hiperfiltração glomerular que resulta de uma redução da lesão podocitária, um fator determinante para a albuminúria na nefropatia diabética (VARGAS et al., 2018). Além disso, os flavonoides têm sido relacionados a efeitos antidepressivos que estão associados principalmente ao aumento do conteúdo de bioamina (GERMAN-PONCIANO et al., 2018; KHAN et al., 2018).

A fermentação do suco de *T. grandiflorum* com *L. fermentum* ATCC 23271 provocou aumento significativo do teor de flavonoides (aproximadamente 10 vezes) (Figura 4). O extrato do suco não fermentado apresentou teores na ordem de $1,66 \pm 1,44$ mg EQ/g, enquanto que o extrato do suco fermentado obteve $21,10 \pm 0,84$ mg EQ/g. Similarmente, a fermentação do suco de *T. grandiflorum* por *L. rhamnosus* ATCC 9595 também resultou no aumento (aproximadamente 3 vezes) do teor de flavonoides em comparação com o suco não fermentado (Figura 3B). O extrato do suco fermentado apresentou $5,80 \pm 3,19$ mg EQ/g, enquanto que no extrato do suco não fermentado os valores encontrados foram de $1,66 \pm 1,44$ mg EQ/g.

Estudos têm demonstrado que durante a fermentação láctica, os ácidos fenólicos, ésteres de ácido fenólico e flavonoides glicosilados são metabolizados (SVENSSON et al., 2010; EWE; ALIAS, 2012; MARAZZA; GARRO; DE GIORI, 2009). Por exemplo, o efeito da fermentação por linhagens de *L. fermentum* no conteúdo de flavonoides foi relacionado com a conversão de isoflavonas e propriedades probióticas, como observado para o leite de soja fermentado e suplementado com biotina (EWE; ALIAS, 2012).

De igual modo, linhagens de *L. rhamnosus* para aumentar ou modificar o conteúdo de flavonoides de produtos vegetais ou animais tem sido relatado em outros trabalhos, como uma produção de aglicona por *L. rhamnosus* CRL981 pois apresenta maiores níveis β -glicosidase durante a fermentação do leite de soja. *L. rhamnosus* CRL981 foi avaliado quanto à hidrólise de isoflavonas em agliconas, população celular, açúcares residuais e ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação em leite de soja (37 °C por 24h). *L. rhamnosus* CRL981 foi capaz de proliferar no leite de soja e produzir uma atividade de β -glucosidase elevada, conseguindo uma hidrólise completa das isoflavonas glucósidas após 12 h de fermentação (MARAZZA; GARRO; DE GIORI, 2009). Segundo Hati et al. (2015) a cepa *L. rhamnosus* C6 também apresenta maior atividade de β -glicosidase e bioconversão de isoflavonas de gliconas a agliconas em leite de soja fermentado. É provável que o aumento do teor de aglicona de isoflavona no leite de soja fermentado melhore a funcionalidade biológica do leite de soja (por exemplo, atividade antioxidante, alívio de distúrbios hormonais em mulheres na pós-menopausa, etc.).

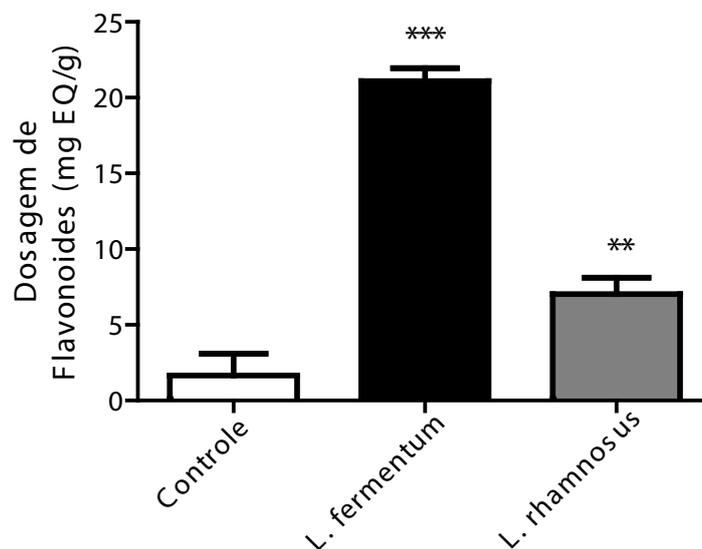


Figura 3: Efeito da fermentação láctica no teor de flavonoides totais no suco de *T. grandiflorum*. (*) Diferenças estatísticas em relação ao suco não fermentado ($p < 0,05$).

3.4 A fermentação láctica aumentou as características antioxidantes do suco de *T. grandiflorum*.

A ação antioxidante dos extratos obtidos a partir dos sucos de *T. grandiflorum* submetidos ou não à fermentação láctica foi determinada pelos testes de DPPH e ABTS. Os melhores resultados foram obtidos pela fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 9595. O suco não fermentado apresentou uma IC50 de 8244,32 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 2), sendo observado que a fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 9595 aumentou em mais de 10 vezes (IC50 de 799,42 $\mu\text{g/mL}$) a ação antioxidante do suco em sequestrar o radical DPPH, já a fermentação com *L. fermentum* ATCC 23271 potencializou mais de duas vezes este efeito (IC50 de 2453,34 $\mu\text{g/mL}$).

Ensaio	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)		
	Controle	L. fermentum	L. rhamnosus
DPPH	8244,32	2453,34	799,43
ABTS (6 min)	1319,76	796,39	264,28
ABTS (15 min)	1171,27	664,53	185,25
ABTS (30 min)	997,47	525,97	104,58
ABTS (45 min)	860,98	416,45	104,58
ABTS (60 min)	747,43	311,24	44,65

Tabela 2: Valores de IC50 encontrados nos ensaios de DPPH e ABTS para os extratos obtidos dos sucos de *T. grandiflorum* fermentados ou não fermentado.

Comparando os resultados de cada concentração testadas dos extratos fermentados com o controle, foi possível observar que o extrato do suco fermentado por *L.*

rhamnosus ATCC 9595 apresentou inibição significativamente maior nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ e 250 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que para a fermentação com *L. fermentum* ATCC 23271 a inibição do radical DPPH foi significativamente maior que nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$) (Figura 4).

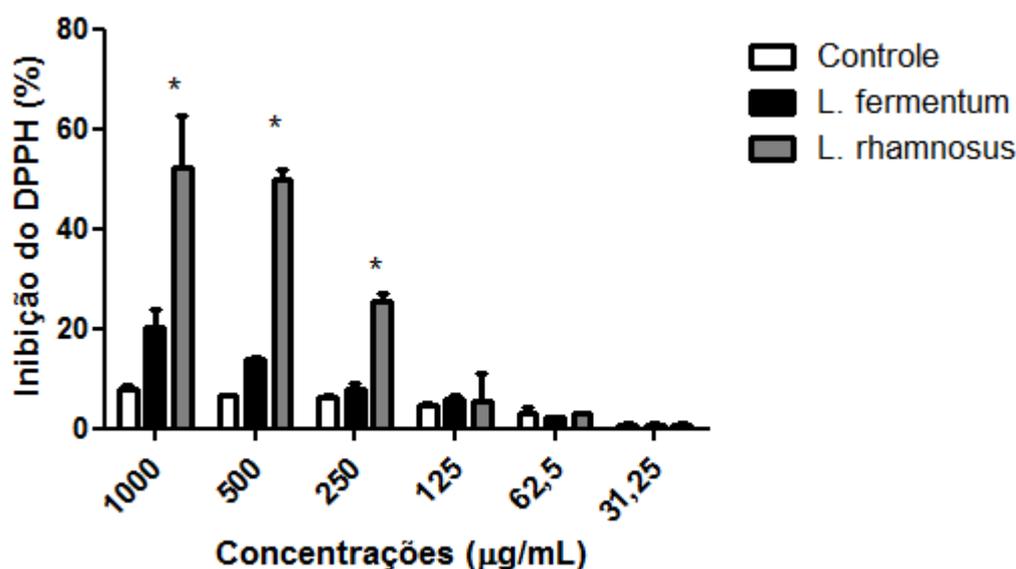


Figura 4: Inibição do radical DPPH por extratos obtidos dos sucos de *T. grandiflorum* fermentados e não fermentado. (*) Diferenças estatísticas em relação ao suco não fermentado ($p < 0,05$).

A avaliação pelo método ABTS foi realizada após diferentes tempos de incubação (figuras 5 e 6) e os valores de IC50 estão representados na tabela 2. Em todos os períodos testados foram encontrados uma maior atividade antioxidante dos extratos obtidos dos sucos fermentados, sendo este efeito mais potencializado com a fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595.

Após 6 minutos de incubação, foram encontrados valores de IC50 de 264,28 $\mu\text{g/mL}$ e 796,39 $\mu\text{g/mL}$ para os extratos dos sucos fermentados por *L. rhamnosus* ATCC 9595 e *L. fermentum* ATCC 23271, respectivamente; enquanto que o extrato do suco não fermentado apresentou IC50 de 1319,76 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 2). Neste tempo, a atividade antioxidante do extrato do suco fermentado por *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi significativamente superior nas concentrações mais altas ($\geq 250 \mu\text{g/mL}$) em relação ao suco não fermentado, já a fermentação por *L. fermentum* ATCC 23271 apenas foi superior na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Figuras 5A e 6A).

Resultados semelhantes foram encontrados para incubação por 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos. Nestes períodos, os valores de IC50 para o extrato do suco fermentado por *L. rhamnosus* ATCC 9595 foram aproximadamente 6 a 8 vezes maiores (185,25 $\mu\text{g/mL}$, 104,58 $\mu\text{g/mL}$, 104,58 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente para os tempos de 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos) que aqueles observados para o extrato do suco não fermentado (1171,27 $\mu\text{g/mL}$ e 997,47 $\mu\text{g/mL}$, 860,98 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) (Tabela 2).

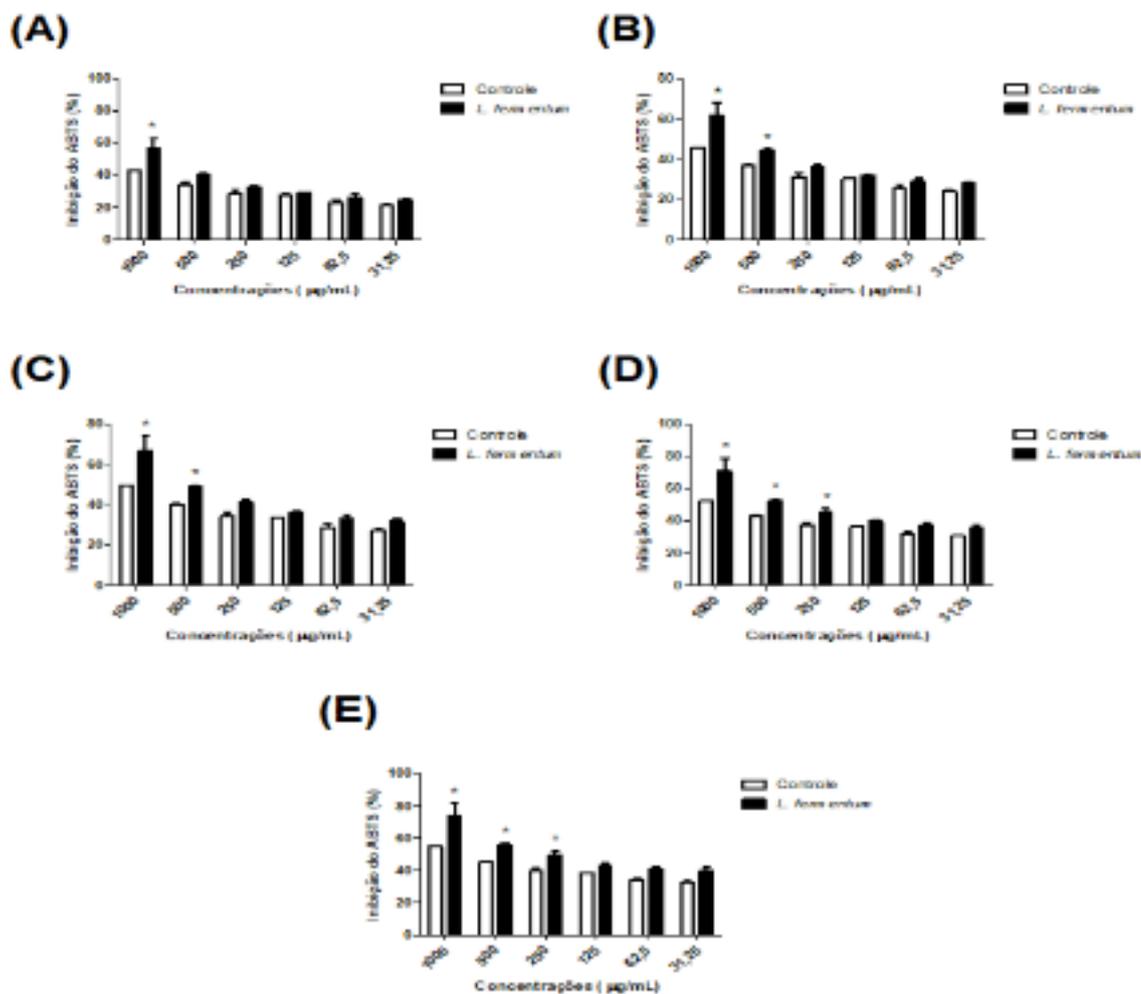


Figura 5: Cinética de inibição do radical ABTS por extratos obtidos dos sucos de *T. grandiflorum* fermentados e não fermentados por *L. fermentum* ATCC 23271. (A) Inibição do Radical ABTS após 6 minutos de incubação; (B) Inibição do Radical ABTS após 15 minutos de incubação; (C) Inibição do Radical ABTS após 30 minutos de incubação; (D) Inibição do Radical ABTS após 45 minutos de incubação; (E) Inibição do Radical ABTS após 60 minutos de incubação. (*) Diferenças estatísticas em relação ao suco não fermentado ($p < 0,05$).

Vale destacar que, após 60 minutos de incubação, o valor de IC50 para o extrato do suco fermentado por *L. rhamnosus* ATCC 9595 ($44,65 \mu\text{g/mL}$) foi cerca de 17 vezes superior que o encontrado para o extrato do suco não fermentado ($747,43 \mu\text{g/mL}$). Fazendo a comparação para cada concentração, nos tempos 15 minutos e 30 minutos, a atividade antioxidante do extrato do suco fermentado foi significativamente superior nas concentrações de $1000 \mu\text{g/mL}$, $500 \mu\text{g/mL}$, $250 \mu\text{g/mL}$ e $125 \mu\text{g/mL}$ (Figura 6). Já após 45 minutos e 60 minutos de incubação, a atividade antioxidante do extrato do suco fermentado foi significativamente superior em todas as concentrações avaliadas (Figura 6D e 6E).

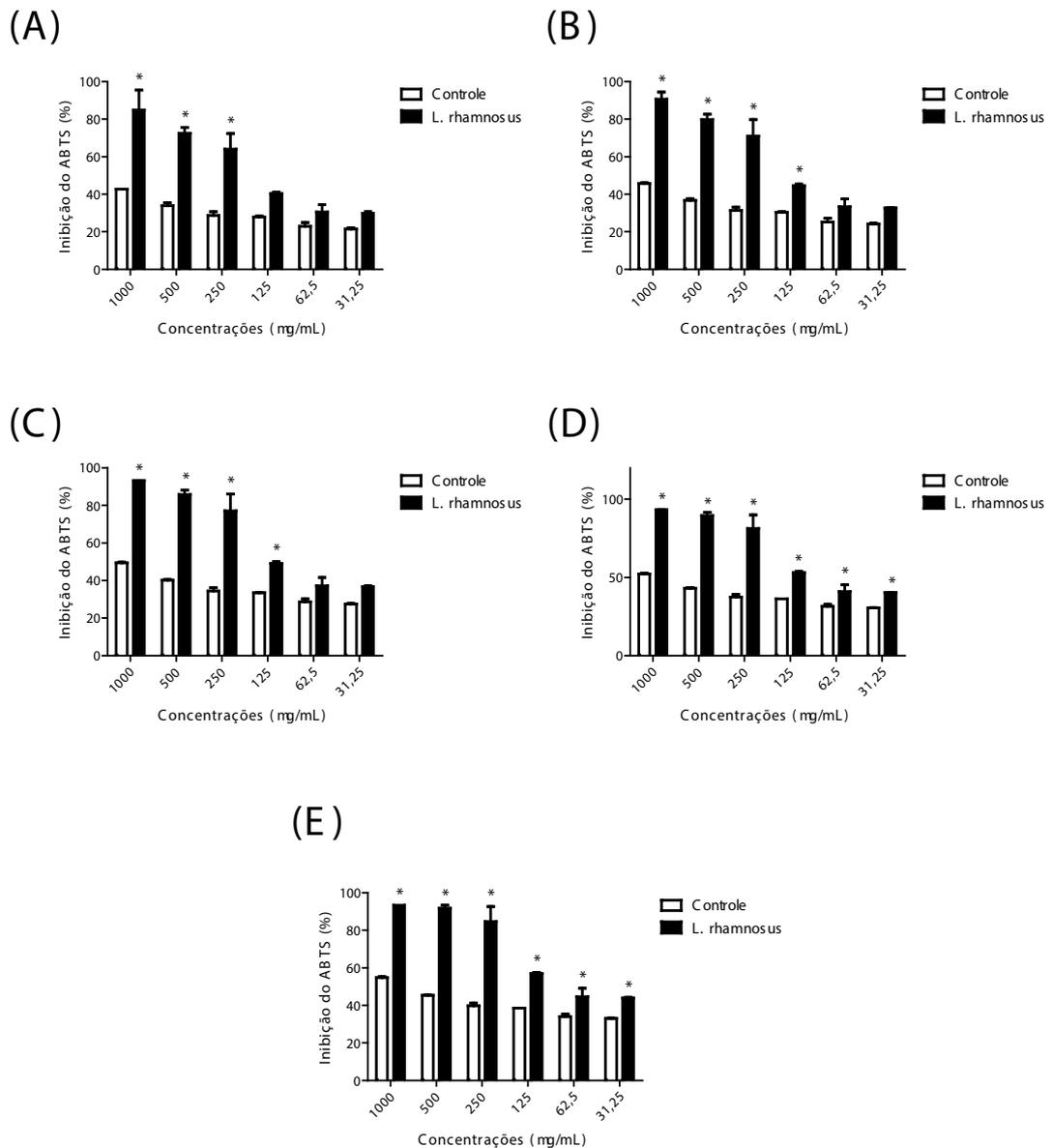


Figura 6: Cinética de inibição do radical ABTS pelos extratos obtidos do suco de *T. grandiflorum* fermentados e não fermentados por *L. rhamnosus* ATCC 9595. (A) Inibição do Radical ABTS após 6 minutos de incubação; (B) Inibição do Radical ABTS após 15 minutos de incubação; (C) Inibição do Radical ABTS após 30 minutos de incubação; (D) Inibição do Radical ABTS após 45 minutos de incubação; (E) Inibição do Radical ABTS após 60 minutos de incubação. (*) Diferenças estatísticas em relação ao suco não fermentado ($p < 0,05$).

No caso da fermentação com *L. fermentum* ATCC 23271, o extrato apresentou valores de IC50 aproximadamente duas vezes maiores (664,52 $\mu\text{g/mL}$, 525,97 $\mu\text{g/mL}$, 416,45 $\mu\text{g/mL}$ e 311,24 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente para os tempos de 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos e 60 minutos) que os obtidos com o suco não fermentado. Nos tempos 15 minutos e 30 minutos, a atividade antioxidante do extrato do suco fermentado por *L. fermentum* ATCC 23271 foi significativamente superior nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ (Figuras 5B e 5C). Já após 45 minutos e 60 minutos de incubação, a atividade antioxidante do extrato do suco fermentado foi significativamente superior nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ e 250 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 5D e 5E).

Em conjunto, nossos resultados demonstram que a fermentação láctica do suco de *T. grandiflorum* resultou no aumento no teor de compostos com ação antioxidante, sendo este efeito mais potente utilizando a linhagem *L. rhamnosus* ATCC 9595 do que com *L. fermentum* ATCC 23271. Estudos anteriores têm demonstrado o uso de linhagens de linhagens destas duas espécies com o intuito de aumentar as características funcionais de bebidas. Por exemplo, a cepa *L. fermentum* KKL1 foi utilizada para obtenção de uma bebida probiótica à base de arroz com ação antioxidante (GHOSH K et al., 2015).

Em outro estudo, verificou-se que o extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) fermentado por *L. fermentum* (FGTE) aumentou significativamente a viabilidade celular das células hepáticas HepG2, após a exposição ao etanol (PARK; KIM Y; KIM SH, 2012). Semelhantemente, o uso de *L. rhamnosus* para aumentar a atividade farmacológica de plantas foi reportado. Recentemente, foi demonstrado que a biotransformação do extrato de *Pueraria lobata* com *L. rhamnosus* vitaP1 melhorou as atividades anti-melanogênica, anti-tirosinase e a capacidade antioxidante (KWON et al., 2018).

4 | CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível observar que a polpa de *T. grandiflorum* apresenta as características necessárias para garantir o crescimento dos lactobacilos estudados, sem a necessidade de suplementação. Em adição, a fermentação por estas bactérias aumentou a capacidade antioxidante da polpa o que está associado com aumento nos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides. Desta forma, este trabalho fornece indícios para a aplicação do suco de cupuaçu como veículo para crescimento de lactobacilos, o que pode ser explorado pelas indústrias alimentares e farmacêuticas, abrindo novas perspectivas para aplicação deste suco para o desenvolvimento de alimentos probióticos.

REFERENCIAS

ALKHALIDY, Hana; WANG, Yao; LIU, Dongmin. Dietary Flavonoids in the Prevention of T2D: **An Overview. Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 438, 2018.

ALMEIDA, A. Filipa; SANTOS, Cláudia N.; VENTURA, M. Rita. Synthesis of New Sulfated and Glucuronated Metabolites of Dietary Phenolic Compounds Identified in Human Biological Samples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 31, p. 6460-6466, 2017

BOND, Diana M.; MORRIS, Jonathan M.; NASSAR, Natasha. Study protocol: evaluation of the probiotic Lactobacillus Fermentum CECT5716 for the prevention of mastitis in breastfeeding women: a randomised controlled trial. **BMC pregnancy and childbirth**, v.17, n.1, p.148,2017.

COSTA, Mayra Garcia Maia et al. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: process optimisation and product stability. **Food chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 261-266, 2013.

DE PRISCO, Annachiara; MAURIELLO, Gianluigi. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in Food Science & Technology*, v.48, n.01, p. 27-39,2016.

DE SOUZA, Evandro Leite et al. Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities—A review. **Critical reviews in food science and nutrition**, p. 1-15, 2018.

DI CAGNO, R.; CODDA, R.; DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.*, v. 33, p. 1-10, 2013.

DIAS, Maria Inês et al. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 9-22, 2016.

EWE, Joo Ann; ALIAS, Abdul Karim. Bioconversion of isoflavones and the probiotic properties of the electroporated parent and subsequent three subcultures of *Lactobacillus fermentum* BT 8219 in biotin-soymilk. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2012, 22.7: 947-959.

FARIAS, Natalie; SOARES, Mariana; GOUVEIA, Ester. Enhancement of the viability of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in passion fruit juice: Application of a central

FONTELES, Thatyane Vidal et al. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 7, p. 2819-2826, 2012.

GALVÃO, Jessivaldo Rodrigues et al. Biomassa e estoque de carbono em progênies de cupuaçuzeiros em função da idade. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, v. 12, n. 4, p. 503-507, 2017.

GERMAN-PONCIANO, León Jesús et al. Advances in the preclinical study of some flavonoids as potential antidepressant agents. *Scientifica*, v. 2018.

GHOSH, Kuntal, et al. Role of probiotic *Lactobacillus fermentum* KKL1 in the preparation of a rice based fermented beverage. *Bioresource technology*, 2015, 188: 161-168.

KHAN, Haroon et al. Current standing of plant derived flavonoids as an antidepressant. **Food and Chemical Toxicology**, 2018.

KUMAR, Bathal Vijaya; VIJAYENDRA, Sistla Venkata Naga; REDDY, Obulam Vijaya Sarathi. Trends in dairy and non-dairy probiotic products-a review. *Journal of food science and technology*, V.52, n.10, p.6112-6124,2016.

KWON, Jeong Eun et al. Biotransformation of *Pueraria lobata* Extract with *Lactobacillus rhamnosus* vitaP1 Enhances Anti-Melanogenic Activity. *Journal of microbiology and biotechnology*, v. 28, n. 1, p. 22-31, 2018.

MARAZZA, Jose A.; GARRO, Marisa S.; DE GIORI, Graciela Savoy. Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. **Food microbiology**, v. 26, n. 3, p. 333-339, 2009.

MARTIM, Salomão Rocha. **Características físico-químicas e atividade da peroxidase e polifenoloxidase em genótipos de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willd ex- Spreng Schum) submetidos ao congelamento**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.

MARTÍN-PELÁEZ, Sandra et al. Effect of olive oil phenolic compounds on the expression of blood pressure-related genes in healthy individuals. **European journal of nutrition**, v. 56, n. 2, p. 663-670, 2017.

- MARTÍN-PELÁEZ, Sandra et al. Influence of phenol-enriched olive oils on human intestinal immune function. **Nutrients**, v. 8, n. 4, p. 213, 2016.
- MARTINS, Flaviano S.; SILVA, Aristóboło M.; NICOLI, Jacques R. Anti-inflammatory effect of two Lactobacillus strains during infection with Gardnerella vaginalis and Candida albicans in a HeLa cell culture model. **Microbiology Society**, 2018.
- NEMATOLLAHI, Amene, et al. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.21, p.49-53,2016.
- OUARABI, Liza, et al. Newly Isolated Lactobacilli strains from Algerian Human Vaginal Microbiota: Lactobacillus fermentum Strains Relevant Probiotic's Candidates. **Probiotics and antimicrobial proteins**, 2017, p.1-12.
- PARK, Jong Ho; KIM, Younghoon; KIM, Sae Hun. Green tea extract (Camellia sinensis) fermented by Lactobacillus fermentum attenuates alcohol-induced liver damage. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, 2012, 76.12: 2294-2300.
- PEREIRA, Ana Lúcia Fernandes et al. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 11, p. 3155-3165, 2013.
- RODRÍGUEZ-NOGALES, Alba, et al. Differential intestinal anti-inflammatory effects of Lactobacillus fermentum and Lactobacillus salivarius in DSS mouse colitis: impact on microRNAs expression and microbiota composition. **Molecular nutrition & food research**, 2017.
- ROTHENBERG, Dylan O.'Neill; ZHOU, Caibi; ZHANG, Lingyun. A Review on the Weight-Loss Effects of Oxidized Tea Polyphenols. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1176, 2018.
- SANTANGELO, C. et al. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds improves metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a possible involvement of reduced levels of circulating visfatin. **Journal of endocrinological investigation**, v. 39, n. 11, p. 1295-1301, 2016.
- SANTOS, Eloyza; ANDRADE, Raissa; GOUVEIA, Ester. Utilization of the pectin and pulp of the passion fruit from Caatinga as probiotic food carriers. **Food Bioscience** v.20, p. 56-61,2017.
- SILVA, Herlane Miranda da. **Caracterização físico-química e informações nutricionais de doce em massa de cupuaçu**. 2014. 44 F. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Maranhão, 2014.
- SVENSSON, Louise et al. Phenolic acids and flavonoids in nonfermented and fermented red sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 16, p. 9214-9220, 2010.
- VARGAS, Félix et al. Flavonoids in Kidney Health and Disease. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 394, 2018.
- VERCE, Marko; DE VUYST, Luc; WECKX, Stefan. Complete and Annotated Genome Sequence of the Sourdough Lactic Acid Bacterium Lactobacillus fermentum IMDO 130101. **Genome announcements**, v. 6, n.19, p. e00256-18, 2018.
- YADAV, Radha, et al. Consumption of Probiotic Lactobacillus fermentum MTCC: 5898-Fermented Milk Attenuates Dyslipidemia, Oxidative Stress, and Inflammation in Male Rats Fed on Cholesterol-Enriched Diet. **Probiotics and antimicrobial proteins**, p.1-10, 2018.

SOBRE O ORGANIZADOR

Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany.

Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-298-2



9 788572 472982