

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Rafael Bizarelo Ribeiro dos Santos

**EFEITO DA HIDRÓLISE ÁCIDA SOBRE O METABOLISMO DE**  
**ELAGITANINOS DA CASCA E SEMENTE DE JABUTICABA**  
*(Myrciaria jaboticaba)* **EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS**

Rio de Janeiro  
Fevereiro, 2024

Rafael Bizarelo Ribeiro dos Santos

EFEITO DA HIDRÓLISE ÁCIDA SOBRE O METABOLISMO DE  
ELAGITANINOS DA CASCA E SEMENTE DE JABUTICABA  
(*Myrciaria jaboticaba*) EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Nutrição  
Humana do Instituto Josué de Castro,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
como requisito à obtenção do título de  
Mestre em Nutrição Humana.

Orientadores:

Prof. Dra. Mariana Costa Monteiro

Prof. Dra. Kim Ohanna Pimenta Inada

Rio de Janeiro

Fevereiro, 2024

## CIP - Catalogação na Publicação

Be Bizarelo Ribeiro do Santos, Rafael  
EFEITO DA HIDRÓLISE ÁCIDA SOBRE O METABOLISMO DE  
ELAGITANINOS DA CASCA E SEMENTE DE JABUTICABA  
(Myrciaria jaboticaba) EM INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS /  
Rafael Bizarelo Ribeiro do Santos. -- Rio de  
Janeiro, 2024.  
99 f.

Orientadora: Mariana Costa Monteiro .  
Coorientadora: Kim Ohanna Pimenta Inada.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Instituto de Nutrição Josué de  
Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2024.

1. Jaboticaba. 2. Hidrólise ácida. 3. Composição  
corporal. 4. Elagitaninos. I. Costa Monteiro ,  
Mariana , orient. II. Ohanna Pimenta Inada, Kim ,  
coorient. III. Título.

Rafael Bizarelo Ribeiro dos Santos

EFEITO DA HIDRÓLISE ÁCIDA SOBRE O METABOLISMO DE ELAGITANINOS  
DA CASCA E SEMENTE DE JABUTICABA (*MYRCIARIA JABOTICABA*) EM  
INDIVÍDUOS EUTRÓFICOS.

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Nutrição  
Humana do Instituto Josué de Castro,  
Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
como requisito à obtenção do título de  
Mestre em Nutrição Humana

Aprovado por:

---

Presidente, Prof<sup>a</sup>. DSc. Mariana Costa Monteiro, INJC/UFRJ

---

Prof<sup>a</sup>. DSc. Eliane Fialho de Oliveira, INJC/UFRJ

---

Prof. DSc. Evandro Leite de Souza, PPGCN/UFPB

---

Prof. DSc. Julio Beltrame Deleprane, IN/UERJ

Dedico essa dissertação aos meus pais, Ari e Luciene.

Ao meu irmão Odeon e minha noiva Catharine.

## Agradecimentos

Em primeiro lugar à Deus, com seus sinais (as vezes não tão sutis) mostrou-me o caminho a ser seguido, e a oportunidade de me tornar cada vez mais forte após cada queda. E acima de tudo acreditar que através dele tudo é possível. “Pois todo aquele que pede, recebe. Qualquer um que procura, acha. Se baterem, a porta será aberta.”

À minha mãe Luciene, que sempre acreditou em mim quando nem eu mesmo acreditei. Comemora a cada vitória e me acolhe a cada derrota. Por sempre se fazer presente mesmo a distância orando e torcendo por mim. Espero que um dia a senhora sinta por mim o mesmo orgulho que eu sinto em ter a senhora como mãe. A dona do melhor abraço do mundo.

Ao meu pai Ari, que através do cimento, pedra, baldes de concreto e muito esforço físico ensinou-me o valor do trabalho duro e da força de vontade. Ao longo dos anos, olho no espelho e cada vez mais vejo o senhor. Agradeço por tudo, jamais conseguirei recompensá-lo na mesma proporção. Assim como quando criança, tenho o senhor como exemplo de um grande homem.

Ao meu irmão Odeon, um coração tão grande quanto sua estatura. Desde garoto tive ele como uma referência, e ainda hoje tenho muito que aprender com ele. Além de irmãos de sangue, é um dos meus melhores amigos.

À minha noiva Catharine, que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis e divertidos, e sempre foi muito compreensiva nessa jornada acadêmica. Desde o falso momento *fitness* dela, há quase 10 anos, já imaginava que iríamos viver o que vivemos hoje. Sou extremamente grato à Deus pela oportunidade de viver ao seu lado.

À minha tia e professora Cleonice, a primeira graduada de toda minha família. Incentivou meus estudos desde criança, e me ajudou em diversos momentos críticos. Parte dessa jornada devo a senhora.

À minha sobrinha Heloíse, a criança mais esperta que já conheci. Sei que terás um futuro brilhante, é o orgulho da família e do titio.

Aos meus melhores amigos, Daniel Pinto, Raphael Lau, Izaias Caranjo, Anthony e Richard Barbieri e Bruno Fernandes (*in memoriam*). Bruno Fernandes, vulgo Skyline que recentemente nos deixou vítima de um câncer, jamais esquecerei dos nossos tempos de garoto jogando basquete e dos tombos na tentativa de executar o mortal para trás, sua história me motiva.

À minha orientadora Mariana Monteiro, por me aceitar como seu aluno mesmo sem me conhecer. Me deu tarefas difíceis ao longo do mestrado, porém sempre estendeu a mão para ajudar e gastou muitas horas para me ensinar. Ensinando a partir do seu próprio exemplo.

Ao professor Daniel Perrone, que através de sua excelente habilidade como professor converteu vários temas complexos em temas mais digeríveis e acessíveis. Uma didática sem igual.

À professora Kim Inada, que me ensinou a pipetar pela primeira vez logo no início do mestrado. Sem dúvida uma das pessoas mais inteligentes que já conheci, quando falam do nível da Kim eu logo digo que o sarrafo será alto demais.

Às minhas orientadoras na graduação em nutrição, Omara Machado e Juliana Villar que comemoram minha entrada no mestrado e cobram minha conclusão. Aos colegas de laboratório, Bia, Caio, Nathalia, Suellen, Samara, Genilton, Andressa, Fernanda pela ajuda em diversos momentos.

Aos voluntários e a banca examinadora, que aceitaram participar e contribuir na minha dissertação do mestrado.

À CAPES, FAPERJ e ao CNPq pelo financiamento científico que possibilitou a realização deste trabalho.

## RESUMO

Santos, Rafael Bizarelo Ribeiro dos. Efeito da hidrólise ácida sobre o metabolismo de elagitaninos da casca e semente de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) em indivíduos eutróficos. Rio de Janeiro, 2024. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

O consumo de alimentos fonte de elagitaninos tem sido associado a diferentes benefícios para a saúde humana. No entanto, existe uma alta variabilidade interindividual na magnitude desses efeitos biológicos, o que pode ser atribuído principalmente à capacidade da microbiota de metabolizar os elagitaninos e seus derivados. Além disso, a forma como esses compostos estão ligados a matriz alimentar também pode influenciar a sua metabolização. Portanto, o objetivo desta dissertação foi investigar o impacto da hidrólise ácida no metabolismo dos elagitaninos da casca e semente da jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) em indivíduos eutróficos. Antes do início do estudo clínico foi realizada a investigação do efeito de condições de processamento (secagem e tempos de hidrólise ácida) na liberação de elagitaninos da matriz alimentar. O estudo clínico foi do tipo *crossover* randomizado cego, com a participação de 20 voluntários eutróficos (13 homens e 7 mulheres), que consumiram, em diferentes momentos, cápsulas contendo farinha de jaboticaba ou farinha de jaboticaba hidrolisada, com período de *washout* de 14 dias. Amostras de urina foram coletadas nos seguintes intervalos após o consumo das cápsulas: 0-4 h, 4-8 h, 8-12 h, 12-24 h, 24-36 h, 36-48 h e 48-72 h. Durante toda a coleta de urina e ao longo do estudo os voluntários restringiram completamente o consumo de fontes alimentares de elagitaninos. Os metabólitos urinários foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. A melhor condição de processamento para aumentar o teor de ácido elágico solúvel foi obtida na casca e semente de jaboticaba desidratada em estufa (75 °C por 22 h), hidrolisada com HCl 4 M a 90 °C por 6 h, e posteriormente liofilizada (-50 °C por 48 h). O teor de ácido elágico solúvel na farinha de jaboticaba hidrolisada foi 2,5 vezes superior comparado a farinha de jaboticaba. A análise dos metabotipos dos voluntários ( $n = 20$ ) revelou que 45% foram classificados como metabotipo A, 40% como metabotipo B e 15% como metabotipo 0. O consumo da farinha de jaboticaba hidrolisada resultou em um aumento significativo na concentração urinária de urolitinas em comparação ao consumo da farinha de jaboticaba. Foi observada diferença na composição corporal e somatotipo entre os diferentes metabotipos, demonstrando que em indivíduos



eutróficos a composição corporal e a forma corporal parecem estar relacionadas com a capacidade dos indivíduos em metabolizar os elagitaninos.

**Palavras-chave:** Jabuticaba, elagitaninos, ácido elágico, hidrólise ácida, metabotipos, urolitinas, composição corporal.

## ABSTRACT

Santos, Rafael Bizarelo Ribeiro dos. Effect of acid hydrolysis on the metabolism of ellagitannins from the peel and seed of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) in eutrophic individuals. Rio de Janeiro, 2023. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

The consumption of food containing ellagitannins has been associated with various benefits to human health. However, the magnitude of these biological effects varies widely between individuals, and this can mainly be attributed to the microbiota's ability to metabolize ellagitannins and their derivatives. Additionally, the form that these compounds are bound to the food matrix can also influence their metabolism. Therefore, the aim of this dissertation was to investigate the impact of acid hydrolysis on the metabolism of ellagitannins from the peel and seed of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) in eutrophic individuals. Prior to the clinical study, an investigation was conducted into the effect of processing conditions (drying and acid hydrolysis times) on the release of ellagitannins from the food matrix. The clinical study was a blinded randomized crossover trial, involving 20 eutrophic volunteers (13 men and 7 women), who consumed capsules containing either jaboticaba powder or hydrolyzed jaboticaba powder at different times, with a washout period of 14 days. Urine samples were collected at the following intervals after capsule consumption: 0-4 h, 4-8 h, 8-12 h, 12-24 h, 24-36 h, 36-48 h, and 48-72 h. Throughout the urine collection and the duration of the study, volunteers completely restricted the consumption of ellagitannin food sources. Urinary metabolites were analyzed by high-performance liquid chromatography. The best processing condition to increase the content of soluble ellagic acid was obtained using peel and seed of jaboticaba dehydrated in an oven (75 °C for 22 h), hydrolyzed with 4 M HCl at 90 °C for 6 h, and then freeze-dried (-50 °C for 48 h). The soluble ellagic acid content in hydrolyzed jaboticaba powder was 2.5 times higher compared to jaboticaba powder. The analysis of the volunteers' metabotypes ( $n = 20$ ) revealed that 45% were classified as metabotype A, 40% as metabotype B, and 15% as metabotype 0. The consumption of hydrolyzed jaboticaba powder resulted in a significant increase in urinary urolithin concentrations compared to the consumption of jaboticaba powder. Differences in body composition and somatotype among the different metabotypes were observed, demonstrating that in eutrophic individuals, body

composition and body shape appear to be related to the individuals' ability to metabolize ellagitannins.

Keywords: Jaboticaba, ellagitannins, ellagic acid, acid hydrolysis, metabotypes, urolithins, body composition.

## LISTA DE ABREVIACOES

APH	Alta Presso Hidrostática
CADEG	Central de Abastecimento do Estado da Guanabara
CAPES	Coordenao de Aperfeioamento de Pessoal de Nível Superior
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnolgico
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DP	Desvio padro
DHHDP	Desidrohexahidroxidifenoil
DMSO	Dimetilsulfxido
DYRK1A	<i>dual-specific tyrosine phosrylation-regulated kinase 1A</i>
EM	Espectrometria de Massas
FAPERJ	Fundao Carlos Chagas Filho de Amparo  Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FJ	Farinha de jabuticaba
FJH	Farinha de jabuticaba hidrolisada
HCl	cido clorídrico
HHDP	Hexahidroxidifenico
IMC	ndice de Massa Corporal
IsoUro-A 3-glu	Isourolitina A 3-glucuronídeo
IsoUro-A 9-glu	Isourolitina A 9- glucuronídeo
IsoUro-A	Isourolitina A
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i>
NA	No se aplica
ND	No detectado
RCQ	Relao Cintura-Quadril
$t_{máx}$	Tempo de excreo máxima
UM-A	Metabotipo A
UM-B	Metabotipo B
UM-0	Metabotipo 0
Uro-A 3/8-glu	Urolitina A 3/8-glucuronídeo
Uro-B	Urolitina B

Uro-A

Uro-B-glu

UV

Urolitina A

Urolitina B-glucuronídeo

Ultravioleta

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág</b>
<b>Figura 1.</b> Estrutura química dos taninos hidrolisáveis e condensados (Fonte: Adaptado de Molino et al., 2023) .....	23
<b>Figura 2.</b> Estruturas químicas de alguns elagitaninos e seus precursores (Fonte: Evtyugin et al., 2020) .....	25
<b>Figura 3.</b> Formação do ácido elágico após hidrólise de elagitanino (Fonte: Sharifi-Rad et al., 2022) .....	26
<b>Figura 4.</b> Jabuticaba ( <i>Myrciaria jaboticaba</i> ) e suas frações (Fonte: Inada et al., 2015) .....	30
<b>Figura 5.</b> Estruturas dos elagitaninos presentes na jabuticaba (chemspider.com) ..	31
<b>Figura 6.</b> Transformação dos elagitaninos em ácido hexahidroxidifênico e, posteriormente, em ácido elágico. Catabolismo do ácido elágico em urolitinas e nasutinas pela microbiota intestinal (Fonte: Tomás-Barberán et al., 2016) .....	36
<b>Figura 7.</b> Metabolismo dos elagitaninos ao longo do sistema gastrointestinal (Fonte: Lipińska et al., 2014) .....	37
<b>Figura 8.</b> Catabolismo do ácido elágico em urolitinas. Os círculos delimitam especificamente as urolitinas finais para cada metabotipo, sendo vermelho para indivíduos metabotipo B e azul para indivíduos metabotipo A (Fonte: Cortés-Martín et al., 2019) .....	38
<b>Figura 9.</b> Via metabólica proposta do ácido elágico por cepas dos gêneros <i>Gordonibacter</i> (1), <i>Ellagibacter</i> (2) e <i>Enterocloster</i> (3), incluindo o isolado <i>E. bolteae</i> CEBAS S4A9. (1) <i>Gordonibacter urolithinifaciens</i> e <i>G. pamelaiae</i> ; (2) <i>Ellagibacter isourolithinifaciens</i> ; (3) <i>Enterocloster bolteae</i> , <i>E. asparagiformis</i> e <i>E. citroniae</i> (Fonte: Iglesias-Aguirre et al., 2023) .....	40
<b>Figura 10.</b> Condições de processamento empregados na casca e na semente da jabuticaba para a obtenção das farinhas de jabuticaba. Criado com BioRender.com .....	49
<b>Figura 11.</b> Condições de processamento combinados para o desenvolvimento da farinha de jabuticaba.....	50

<b>Figura 12.</b>	Desenho experimental do estudo clínico crossover randomizado cego. Criado por BioRender.com .....	53
<b>Figura 13.</b>	Diagrama ilustrativo dos procedimentos realizados de coleta das urinas e dados antropométricos .....	54
<b>Figura 14.</b>	Variáveis antropométricas. Estatura ( <b>A</b> ), exemplo de perimetria ( <b>B</b> = perímetro de braço), dobra cutânea ( <b>C</b> = dobra cutânea subescapular) e diâmetro ósseo ( <b>D</b> = biepicondilar do úmero) .....	56
<b>Figura 15.</b>	Teor de ácido elágico solúvel nas amostras de casca e semente de jabuticaba não hidrolisadas e hidrolisadas. O asterisco indica diferença significativa, considerando o método final de secagem (estufa vs. liofilizador) no mesmo tempo de hidrólise ácida. A hashtag indica diferença significativa entre as amostras hidrolisadas por 6 h e posteriormente liofilizadas. bs = base seca .....	61
<b>Figura 16.</b>	Teor de vescalagina e castalagina nas amostras de casca e semente de jabuticaba não hidrolisada e hidrolisada .....	62
<b>Figura 17.</b>	Teor de ácido elágico solúvel ( <b>A</b> ), insolúvel ( <b>B</b> ) e totais ( <b>C</b> ) nas farinhas de jabuticaba utilizadas no estudo clínico. bs = base seca. Teste <i>t</i> não pareado .....	65
<b>Figura 18.</b>	Distribuição dos metabotipos de urolitinas nos voluntários que participaram do estudo .....	66
<b>Figura 19.</b>	Excreção urinária total de urolitinas ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 24-36 h ( <b>A</b> ) e 36-48 h ( <b>B</b> ) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH). Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (teste de Wilcoxon) .....	70
<b>Figura 20.</b>	Excreção urinária de urolitina A 3/8-glucuronídeo ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 24-36 h ( <b>A</b> ) e 36-48 h ( <b>B</b> ) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH). Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (teste de Wilcoxon) .....	70
<b>Figura 21.</b>	Excreção urinária total de urolitinas ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 0-24 h ( <b>A</b> ), 0-36 h ( <b>B</b> ), 0-48 h ( <b>C</b> ) e 0-72 h ( <b>D</b> ) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH).	

	Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (teste de Wilcoxon) .....	72
<b>Figura 22.</b>	Taxa de excreção urinária e tempo máximo de excreção ( $t_{max}$ ) de urolitinas em diferentes tempos após o consumo da FJ (■) e da FJH (▲) .....	74
<b>Figura 23.</b>	Frequência dos voluntários sobre as variáveis associadas ao metabotipo vs somatotipo. $p$ indica associação entre as variáveis. A= voluntários mesomorfos dominantes, B= voluntários não mesomorfos dominantes .....	78
<b>Figura 24.</b>	Disposição dos voluntários no somatocarta .....	79



## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabela 1.</b> Critérios para classificação dos somatotipos .....	59
<b>Tabela 2.</b> Sexo, idade, IMC, somatório das quatro dobras cutâneas (tríceps, suprailíaca, subescapular e perna) e percentual de gordura dos voluntários que participaram do estudo .....	64
<b>Tabela 3.</b> Excreção urinária de metabólitos ( $\mu\text{mol}$ ) em diferentes intervalos de coleta após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH) <sup>1</sup> .....	69
<b>Tabela 4.</b> Comparação entre os voluntários após agrupamento por metabotipo .....	77

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
<b>1. Introdução</b> .....	20
<b>2. Revisão de literatura</b> .....	22
2.1 <i>Elagitaninos</i> .....	22
2.1.1 <i>Fontes alimentares de elagitaninos</i> .....	26
2.1.2 <i>Jaboticaba</i> .....	29
2.1.3 <i>Bioatividade de elagitaninos</i> .....	32
2.2 <i>Metabolismo de elagitaninos</i> .....	35
2.4 <i>Efeito de processamentos tecnológicos no perfil de elagitaninos em alimentos</i> .....	43
2.4.1 <i>Alta Pressão Hidrostática</i> .....	43
2.4.2 <i>Secagem</i> .....	45
2.4.3 <i>Hidrólise ácida</i> .....	46
<b>3. Justificativa</b> .....	47
<b>4. Objetivos</b> .....	48
4.1 <i>Objetivo geral</i> .....	48
4.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	48
<b>5. Material e métodos</b> .....	48
5.1 <i>Obtenção, preparo e armazenamento da matéria-prima</i> .....	48
5.2 <i>Desenvolvimento das farinhas de jaboticaba</i> .....	48
5.2.1 <i>Desidratação da casca e semente da jaboticaba</i> .....	49
5.2.2 <i>Hidrólise ácida da casca e semente de jaboticaba</i> .....	50
5.2.3 <i>Determinação do teor de compostos fenólicos por CLAE-DAD</i> .....	50
5.2.4 <i>Análises microbiológicas</i> .....	52
5.3 <i>Estudo clínico para investigar o metabolismo dos elagitaninos da farinha de</i>	

<i>jabuticaba em adultos</i> .....	52
5.3.1 <i>Preparo das amostras de urina e análise dos metabólitos de elagitaninos por cromatografia líquida (CLAE-DAD)</i> .....	54
5.4 <i>Antropometria e aspectos morfológicos corporais da amostra</i> .....	55
5.4.1 <i>Variáveis antropométricas</i> .....	55
5.4.2 <i>Equipamentos utilizados</i> .....	56
5.4.3 <i>Composição corporal</i> .....	57
5.4.5 <i>Somatotipo</i> .....	57
5.5 <i>Análises estatísticas</i> .....	60
<b>6. Resultados e discussão</b> .....	60
6.1 <i>Condições de processamento do resíduo da casca e semente de jabuticaba ...</i>	60
6.2 <i>Efeito da hidrólise ácida sobre o metabolismo dos elagitaninos da casca e semente da jabuticaba em adultos</i> .....	63
6.3 <i>Composição corporal, forma corporal e metabolismo de elagitaninos</i> .....	75
<b>7. Conclusões</b> .....	81
<b>8. Referências bibliográficas</b> .....	81

## 1. INTRODUÇÃO

Os elagitaninos são compostos fenólicos que pertencem a subclasse dos taninos hidrolisáveis. São frequentemente encontrados em frutas vermelhas, oleaginosas e chás e podem estar presentes em sua forma simples (ácido elágico) ou como uma estrutura mais complexa, como a vescalagina e castalagina (Abe et al., 2011; Grace et al., 2016; Lipińska et al., 2014; Pelvan et al., 2018; Yang & Tomás-Barberán, 2019). Entre as fontes alimentares a jabuticaba, nativa do Brasil, tem se destacado por ser objeto de estudos devido aos seus potenciais efeitos benéficos a saúde, atribuídos em grande parte aos altos teores de compostos fenólicos, em especial os elagitaninos (Chang et al., 2018; Wu et al., 2012).

Apesar da jabuticaba ser apreciada para ingestão na forma fresca, sua alta perecibilidade limita sua comercialização na forma *in natura*. Assim, com o intuito de ampliar o consumo e promover a valorização da fruta, pequenos produtores, a indústria de alimentos e alguns pesquisadores têm desenvolvido produtos tendo como base a jabuticaba, tais como sucos, sorvetes, iogurtes, geleias, vinhos, licores e vinagres (Chang et al., 2018; Inada, 2018; Inada et al., 2018; Wu et al., 2013). No entanto, a fabricação de produtos derivados da jabuticaba resulta na elevada produção de cascas e sementes, que não são usualmente consumidas devido à sua consistência fibrosa e sabor tânico, constituindo assim, o resíduo do processamento tecnológico da jabuticaba. Juntas, essas frações que representam cerca de 40% do peso da fruta e concentram o maior teor de fibras e de compostos fenólicos, em especial as antocianinas e os elagitaninos (Da Silva et al., 2017; Inada et al., 2015; Lima et al., 2011; Pereira et al., 2017; Plaza et al., 2016).

Esses compostos, em especial os elagitaninos, são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e hipolipidêmicas. No entanto, tais efeitos dependem da biodisponibilidade desses compostos, que pode ser influenciada por diversos fatores, como a forma química na qual estão presentes na matriz do alimento, sua liberação da matriz alimentar durante a digestão pelo trato gastrointestinal, sua absorção e a grande variabilidade interindividual em sua metabolização (Manach et al., 2017; Podsedek et al., 2014). Alguns estudos relatam que, no trato gastrointestinal, principalmente no duodeno, por meio da ação do pH intestinal os taninos são despolimerizados, e liberam ácido elágico que posteriormente podem ser metabolizados pela microbiota colônia em urolitinas (Ekambaram et al., 2016; Kiss & Piwowarski, 2016; Lipińska et al., 2014; Ludwig et al., 2015; Tomás-Barberán et al., 2016; Tomás-Barberán et al., 2017).

Com base nisso, a classificação em metabotipos está relacionada a capacidade dos indivíduos em produzir metabólitos microbianos específicos para esses compostos (García-Villalba et al., 2019; Tomás-Barberán et al., 2017). Para os elagitaninos já foram identificados três metabotipos: o metabotipo A (produtores de urolitina A), o metabotipo B (produtores de urolitina A, isourolitina A e urolitina B) e o metabotipo 0 (não produtores destas urolitinas) (Tomás-Barberán et al., 2014). Vários são os fatores que podem influenciar os metabotipos tais como: faixa etária; doenças inflamatórias intestinais; e estado nutricional. O índice de massa corporal (IMC) tem sido frequentemente associado ao metabotipo de urolitinas, demonstrando uma possível relação entre a adiposidade corporal e o metabolismo de urolitinas (Selma et al., 2018; Tomás-Barberán et al., 2014).

No entanto, o IMC não é capaz de diferenciar os componentes da composição corporal, sendo necessário ser complementado com outros indicadores que permitam determinar a composição corporal dos indivíduos (Esparza-Ros; Vaquero-Cristóbal, 2023). Diante disso, Leite (2023) utilizando a bioimpedância para estimar a composição corporal, observou uma maior frequência do metabotipo B em indivíduos com o percentual de gordura adequado. Esse resultado contrapõe a ideia de que indivíduos com excesso de adiposidade corporal serem em sua maioria classificados como metabotipo B, demonstrando a necessidade de uma investigação mais aprofundada sobre a relação entre a composição corporal e o metabolismo de elagitaninos.

Ainda não está claro se as condições fisiológicas do trato gastrointestinal permitem que esses taninos sejam eficientemente hidrolisados a ácido elágico ou se é fundamental a ação das bactérias intestinais. Além disso, não se sabe se as urolitinas podem ser produzidas diretamente a partir de elagitaninos ou se o ácido elágico precisa ser liberado previamente (Tomás-Barberán et al., 2017). Considerando essas informações, supõe-se que o consumo de alimentos com maiores teores de ácido elágico livre acarrete maior produção de urolitinas.

Nos últimos anos, os cientistas de alimentos têm buscado processos tecnológicos que modifiquem a matriz alimentar e/ou a forma química de seus compostos bioativos, resultando em maior biodisponibilidade dos compostos fenólicos e, conseqüentemente, maior bioatividade (Ribas-Augustí et al., 2017). Nesse sentido, processos alimentares como fermentação, hidrólise enzimática, alcalina e ácida, têm um papel importante para liberar compostos fenólicos associados à parede celular. A hidrólise ácida é inserida nesse contexto por se tratar de um processamento tecnológico que tem o objetivo de promover tanto a liberação dos elagitaninos da matriz, quanto a sua despolimerização em ácido elágico,

tornando-os mais biodisponíveis (Acosta-Estrada et al., 2014; García-Villalba et al., 2015). Esse processo resulta na despolimerização de elagitaninos pelo rompimento das ligações glicosídicas com liberação do HHDP, que sofre lactonização espontânea em ácido elágico (Landete et al., 2011).

Cabe destacar que ainda não há relatos na literatura acerca da influência de processamentos tecnológicos sobre o metabolismo dos compostos fenólicos da jabuticaba em humanos. Desse modo, é de grande importância a utilização da casca e semente de jabuticaba objetivando o aproveitamento integral da fruta, por meio da produção de cápsulas que possam ser utilizadas para a investigação da influência da hidrólise ácida sobre o metabolismo de compostos fenólicos, com ênfase nos elagitaninos, em humanos. Compreender de forma mais aprofundada como se dá a interação entre a forma em que os elagitaninos estão presentes no alimento e como são metabolizados no organismo é fundamental para propor tecnologias que visem o desenvolvimento de produtos alimentícios com potencial efeito funcional.

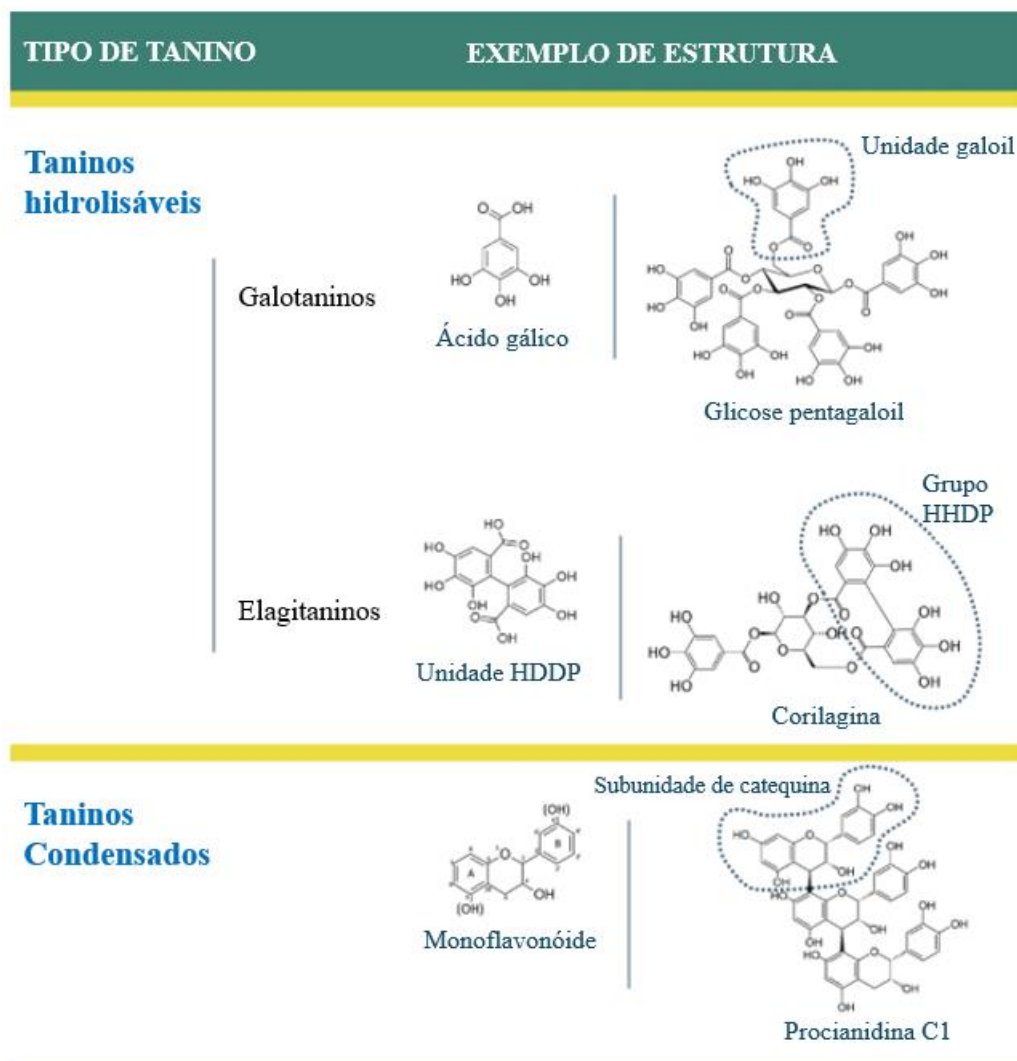
## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Elagitaninos**

Compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, que têm como função a proteção contra predadores, pragas e luz UV, e são atrativos para polinizadores, animais dispersores de sementes, dentre outros (Del Rio et al., 2013; Eseberri et al., 2022). Mais de 8000 compostos já foram identificados no reino vegetal, muitos em alimentos, nos quais podem conferir cor, aroma e sabor, e cujo consumo tem sido associado a proteção contra o desenvolvimento de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer (Del Rio et al., 2013; Eseberri et al., 2022).

Devido à grande diversidade de compostos fenólicos, estes podem ser classificados em flavanoides (flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavononas, flavan-3-óis e antocianidinas) e não-flavanoides (ácidos fenólicos e estilbenos). A estrutura química de todo o grupo se baseia na presença de pelo menos um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas, variando desde compostos simples, de baixo peso molecular, a moléculas grandes e complexas, como os taninos (Crozier et al., 2009). Os taninos compreendem um grupo de compostos fenólicos de alto peso molecular, de até 20.000 daltons, altamente hidroxilados, com uma grande diversidade de estruturas químicas, que compartilham a habilidade de se ligar e precipitar

proteínas. Podem ser divididos em duas grandes categorias: taninos condensados e taninos hidrolisáveis (Landete, 2011; Molino et al., 2023; Sharifi-Rad et al., 2022) (**Figura 1**).



**Figura 1.** Estrutura química dos taninos hidrolisáveis e condensados (Fonte: Adaptado de Molino et al., 2023).

Os taninos condensados ou proantocianidinas são formas oligoméricas ou poliméricas de flavanoides, compostas por 3 a 8 unidades de flavan-3-óis (catequinas) ou flavan-3,4-dióis (leucoantocianidina) (Molino et al., 2023). Já os taninos hidrolisáveis são poliésteres de açúcar, ou outros compostos polihidroxilados não aromáticos e ácidos orgânicos (Serrano et al., 2009). A designação “hidrolisável” se deve ao fato desses compostos, sob o tratamento com água quente, ácidos, bases ou tanases, serem hidrolisados a produtos monoméricos (Landete, 2011; Molino et al., 2023; Serrano et al., 2009;). Os taninos hidrolisáveis, por sua vez, podem ser classificados em galotaninos e elagitaninos, quando os componentes ácidos

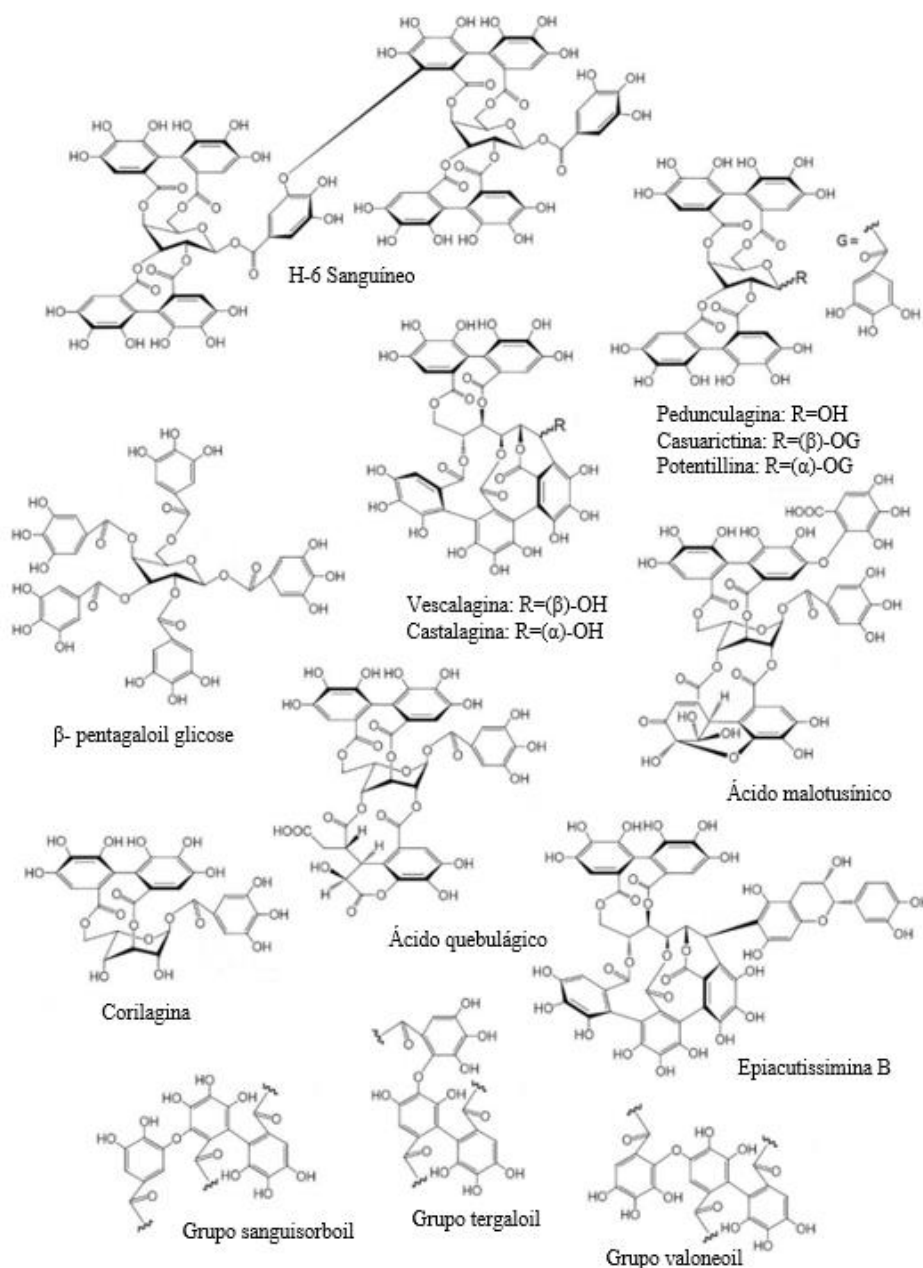
são, respectivamente, o ácido gálico e o ácido elágico (Molino et al., 2023; Serrano et al., 2009; Vermerris & Nicholson, 2006;). Cabe ressaltar que a maioria dos elagitaninos costuma possuir na sua estrutura ambos os ácidos (Serrano et al., 2009).

Os galotaninos consistem em derivados de ácido gálico contendo seis ou mais grupos galoil, podendo apresentar um ou mais grupos digaloil (Molino et al., 2023). São os taninos hidrolisáveis mais simples, porém mais dificilmente encontrados na natureza. Por outro lado, os elagitaninos constituem uma classe complexa de polifenóis, apresenta uma grande variabilidade de estruturas químicas, com mais de mil formas já descritas, e são amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados principalmente em frutas vermelhas, sementes oleaginosas e chás (Landete, 2011; Lipińska et al., 2014; Molino et al., 2023).

A complexidade e grande diversidade de elagitaninos estão relacionadas a sua variabilidade biossintética, o que resulta em ilimitadas possibilidades de estruturas químicas (**Figura 2**). Os elagitaninos são caracterizados por apresentarem uma ou mais unidades de hexahidroxi-difenol (HHDP) esterificadas ao açúcar, usualmente glicose. As porções HHDP, por sua vez, são constituídas por uma ligação biaril (C–C) entre resíduos galoil. A partir daí, existem múltiplas possibilidades de ligação da unidade HHDP a porções de açúcar e forte tendência à produção de derivados diméricos e oligoméricos (Evtyugin et al., 2020; Landete, 2011; Lipińska et al. 2014; Molino et al., 2023; Smeriglio et al., 2016). Etapas adicionais na biossíntese dessas moléculas podem resultar, por exemplo, na produção de um segundo grupo HHDP (*e.g.* casuaricitina) ou, ainda, na clivagem dos grupos HHDP ou galoil formados (*e.g.* corilagina). A partir de um acoplamento oxidativo adicional, podem surgir as formas de trímero e tetrâmero, caso da castalagina e da vescalagina, que possuem um grupo nonahidroxi-trifenoil, também conhecido como flavogalonil. Grupos HHDP também podem sofrer oxidação adicional para formar outras unidades, como desidrohexahidroxi-difenol (DHHDP) ou chebuloil. Ligações C–O entre grupos HHDP é outra possibilidade, resultando em compostos, como sanguisorboil, tergaloil, valoneoil, dentre outros. Dessa forma, através do acoplamento oxidativo de C–O entre as porções galoil e HHDP, os monômeros podem formar dímeros, trímeros, tetrâmeros com pesos moleculares de alguns milhares de Da, como sanguina H-6. Os elagitaninos podem, ainda, se combinar a outras classes de moléculas, formando estruturas híbridas, como o flavano-elagitanino epiacutissimina B (Evtyugin et al., 2020). Assim, em razão da grande diversidade de compostos, os elagitaninos podem ser classificados em monoméricos (nufarina A, punicalagina, geraniina, tellimagrandin II, eugeiina, davidiina, casuarictina, corilagina), diméricos (sanguina), oligoméricos



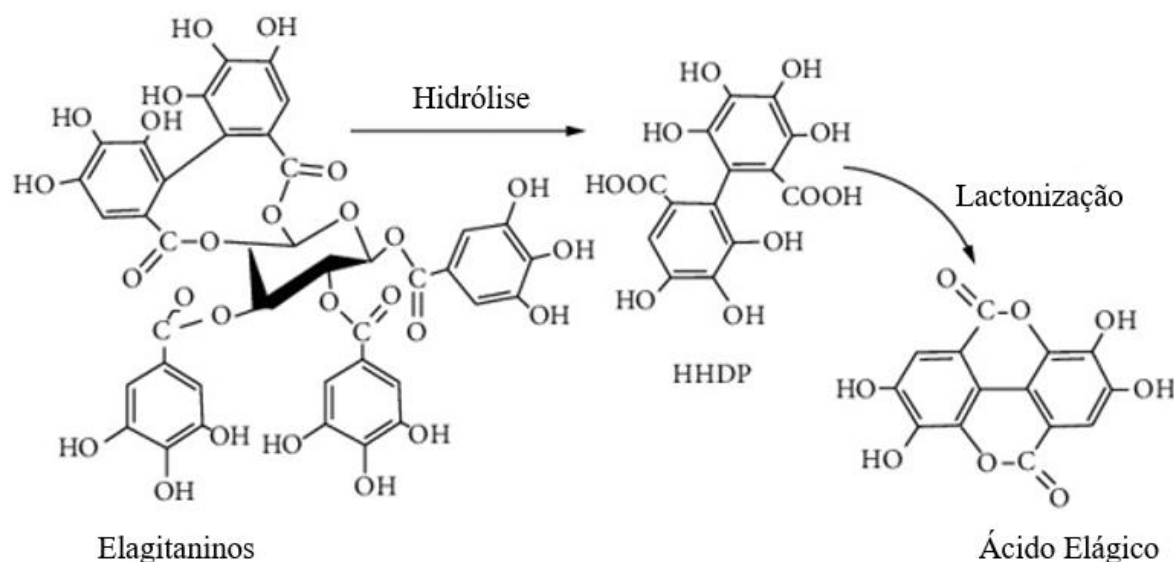
(agrimoniina, nufarina E, nufarina C, hirteliina A) ou C-glicosídicos (vescalagina, castalagina, casuarinina) (Lipińska et al. 2014; Smeriglio et al., 2016).



**Figura 2.** Estruturas químicas de alguns elagitaninos e seus precursores (Fonte: Evtuyugin et al., 2020).

Devido à grande complexidade estrutural desses compostos e a dificuldade em sua caracterização, um recurso comumente empregado é a hidrólise dos elagitaninos utilizando ácidos, bases ou tanases (García-Villalba et al., 2015; Molino et al., 2023; Montes-Ávila et al., 2017). As ligações éster dos elagitaninos são hidrolisadas liberando HHDP que, por sua vez, sofre rearranjo espontâneo (lactonização) em ácido elágico (**Figura 3**), um dímero do ácido

gálico que possui baixa solubilidade em água (Clifford & Scalbert, 2000; Landete, 2011;). O ácido elágico está presente no vacúolo das plantas, na sua forma livre ou como derivados metilados, glicosilados e metoxilados, ou ainda, na forma de elagitaninos solúveis em água. Cabe destacar que durante o processamento de alimentos fontes de elagitaninos, estes também podem ser hidrolisados em ácido elágico e derivados (Landete, 2011).



**Figura 3.** Formação do ácido elágico após hidrólise de elagitanino (Fonte: Sharifi-Rad et al., 2022).

### 2.1.1 Fontes alimentares de elagitaninos

Os elagitaninos e seus derivados já foram descritos em muitos alimentos, como oleaginosas (Abe et al., 2010; Slatnar et al., 2015), chás provenientes da *Camellia sinensis* (Yang & Tomás-Barberán, 2019), romã (García-Villalba et al., 2015; Fischer et al., 2011) e *berries*, como morango, framboesa vermelha, amora silvestre e jabuticaba (Abe et al., 2012; Daniel et al., 1990; Inada et al., 2019; Inada et al., 2020; Seyhan et al., 2023).

Em oleaginosas, Abe e colaboradores (2010) encontraram teores de ácido elágico total de 149 mg/100 g em castanha portuguesa (*Fagaceae*), 301 mg/100 g em noz-pecã (*Juglandaceae*) e 823 mg/100 g em nozes (*Juglandaceae*). Os teores de ácido elágico livre foram de 0,37 mg/100 g, 41 mg/100 g e 15 mg/100 g, respectivamente. Na castanha o principal elagitanino encontrado foi a castalagina, em nozes (*Juglans regia*) e nozes pecã foi a peduncalagina (Anderson et al., 2001; Gonçalves et al., 2010; Malik et al., 2009). Em grãos

de noz (*Juglans regia* L.) foi identificado de 1,7 a 10 mg/100 g de isômeros de vescalagina (Slatnar et al., 2015).

O chá (*Camellia sinensis*) é uma das bebidas mais consumida no mundo, e é também uma importante fonte de elagitaninos. Yang e Tomás-Barberán (2019) selecionaram 29 tipos de chás para traçar o perfil de elagitaninos presentes na infusão, através da quantificação de equivalentes de ácido elágico livre após hidrólise ácida por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM). Os chás com maiores teores de ácido elágico foram: amarelo (*mengding huang e junshan yin*), preto (*qimen black*), chás escuros (*pu-erh e raw*), verde (*long jing e taiping hou kui*), oolong (*tie guan yin*), branco (*bai mu dan e gong mei*) e chás de reprocessamentos, como *Earl Grey e Uji matcha*. Os maiores teores de elagitaninos foram observados nos chás amarelos (419 a 426 mg/100 g) e escuros (446 mg/100g), seguido pelo chá branco (em média, 300 mg/100 g) e pelo chá verde (em média, 250 mg/100 g).

Alguns ensaios clínicos têm utilizado a romã como fonte de elagitaninos e derivados (González-Sarrías et al., 2016; García-Villalba et al., 2015; Zhang et al., 2009) e já está descrito que a punicalagina e punicalina são os principais elagitaninos relatados nesse alimento (González-Sarrías et al., 2016; García-Villalba et al., 2015). Zhang e colaboradores (2009) avaliaram 27 diferentes suplementos comerciais elaborados com diferentes frações da romã (fruta inteira, semente, folha, suco e casca). Os autores estratificaram os suplementos em três grupos: alto teor de elagitaninos (punicalagina e/ou punicalina) e de ácido elágico total (*i*), ácido elágico total como componente principal (*ii*) e teores muito baixos de elagitaninos de ácido elágico (*iii*). Com os valores expressos como porcentagem do peso frente ao peso conhecido do suplemento, o primeiro grupo apresentou de 0,6% a 1,4% de punicalina, 6,6% a 18,0% de punicalagina e 0,5% a 12,3% de ácido elágico total. Já o segundo grupo apresentou entre 0% a 2,1% de punicalina, 0% a 1,4% de punicalagina e 1,4% a 54,7% de ácido elágico total. No terceiro grupo os valores variam de 0% a 0,3% para punicalina, 0% a 0,6% de punicalagina e de 0% a 0,5% de ácido elágico total. Tais dados demonstram que a depender da fração da fruta utilizada, variações nas concentrações dos compostos identificados são observadas. Um alto teor de punicalagina (10.000 mg/100 g) foi relatado na casca da romã liofilizada após extração com solução aquosa de metanol 80% (Santiago et al., 2014). Ficher e colaboradores (2011) encontraram um valor total de elagitaninos de 3.333 mg/100 g na casca e 2.028 mg/100 g no mesocarpo da romã.

Em morangos foi relatado um valor médio de ácido elágico total de 5,2 mg/100 g na polpa e 3,8 mg/100 g nas sementes. Já em framboesas, as sementes (27,5 mg/100 g) possuem maior teor de ácido elágico total em comparação à polpa (0,9 mg/100 g) (Daniel et al., 1990). Seyhan e colaboradores (2023) quantificaram ácido elágico em quatro variedades de mirtilos (*Bluecrop*, *Brigitta*, *Darrow* e *Bluejay*) e os valores médios encontrados de ácido elágico variaram entre 165 mg/ 100 g a 917 mg/100 g. O resultado foi obtido após extração automatizada para líquido pressurizado, sendo utilizado metanol como solvente.

Algumas frutas brasileiras têm se destacado pelo alto teor de elagitaninos, como a grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam), o cambuci (*Campomanesia phaea*) e a jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*). Também conhecida como cereja brasileira, a grumixama é o fruto de uma espécie que cresce em florestas costeiras do Brasil, possui drupa globosa e casca de cor amarela, vermelha ou preta (Lorenzi, 2016). Na polpa da grumixama (confirmar) foram identificados altos teores de ácido elágico total, que variaram entre 82,0 a 243,0 mg/100 g, e os teores de ácido elágico livre variaram de 4,0 a 13,8 mg/100 g (Teixeira et al., 2015). Abe e colaboradores (2012) relataram na grumixama 8,5 mg/100 g de ácido elágico livre e 270 mg/100 g de ácido elágico total. Nesse mesmo estudo, os autores também identificaram o ácido elágico livre e total no cambuci, sendo respectivamente, 0,33 mg/100 g e 267,0 mg/100 g.

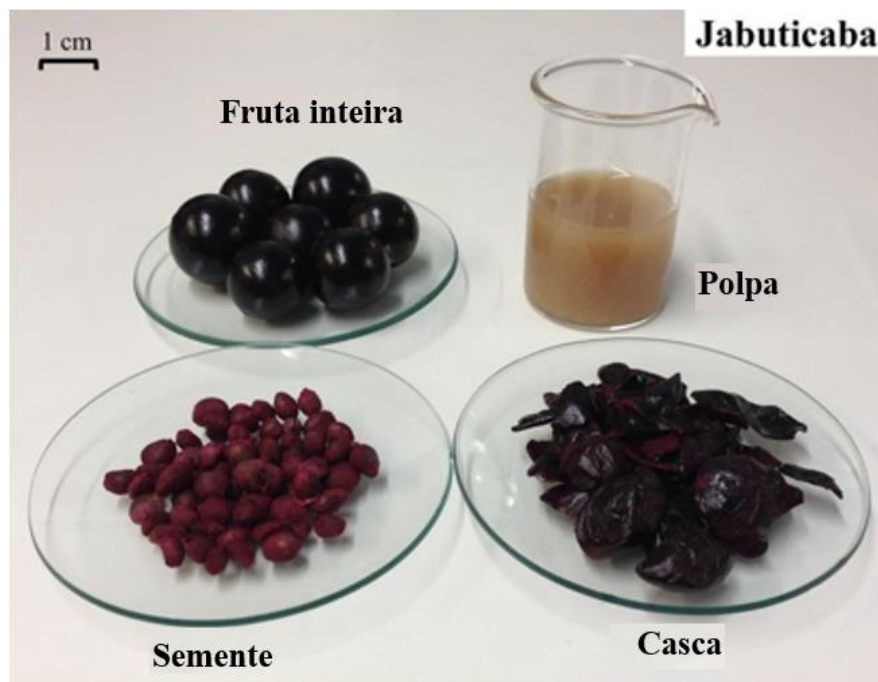
Dentre algumas frutas regionais brasileira, como grumixama, cambuci, jabuticaba, amora (*Rubus fruticosus*) e camu-camu (*Myrciaria dúbia*), Abe e colaboradores (2012) observaram que a jabuticaba apresentou maior teor de ácido elágico total (311 mg/100 g), seguido pela grumixama (270 mg/100 g) e pelo camu-camu (59 mg/100 g). Inada e colaboradores (2015) investigaram a composição química da jabuticaba e suas frações (fruta, polpa, casca, semente e resíduo) e observaram teores de ácido elágico total. O teor de ácido elágico livre foi de 5,3 mg/100 g (polpa) a 178 mg/100 g (casca), ambos os dados expressos em base seca. O teor total de ácido elágico (dados obtidos após hidrólise alcalina e ácida) variaram de 5,3 mg/100 g (polpa) a 276 mg/100 (casca). Os principais elagitaninos já descritos na jabuticaba são a castalagina, vescalagina, peduncalagina, cauariína, casuarinina e casuarictina (Plaza et al., 2016; Inada et al., 2019), dados que serão mais explorados abaixo.

### 2.1.2 Jaboticaba

A jaboticaba, fruto da árvore jaboticabeira, pertence à família Myrtaceae e ao gênero *Myrciaria*, também chamado de *Plinia*. As principais espécies são *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg (Sabará), *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg (Paulista) e *Myrciaria trunciflora* O. Berg (jaboticaba-de-cabinho) (Citadin et al., 2010; Lorenzi, 2016; Wu et al., 2013).

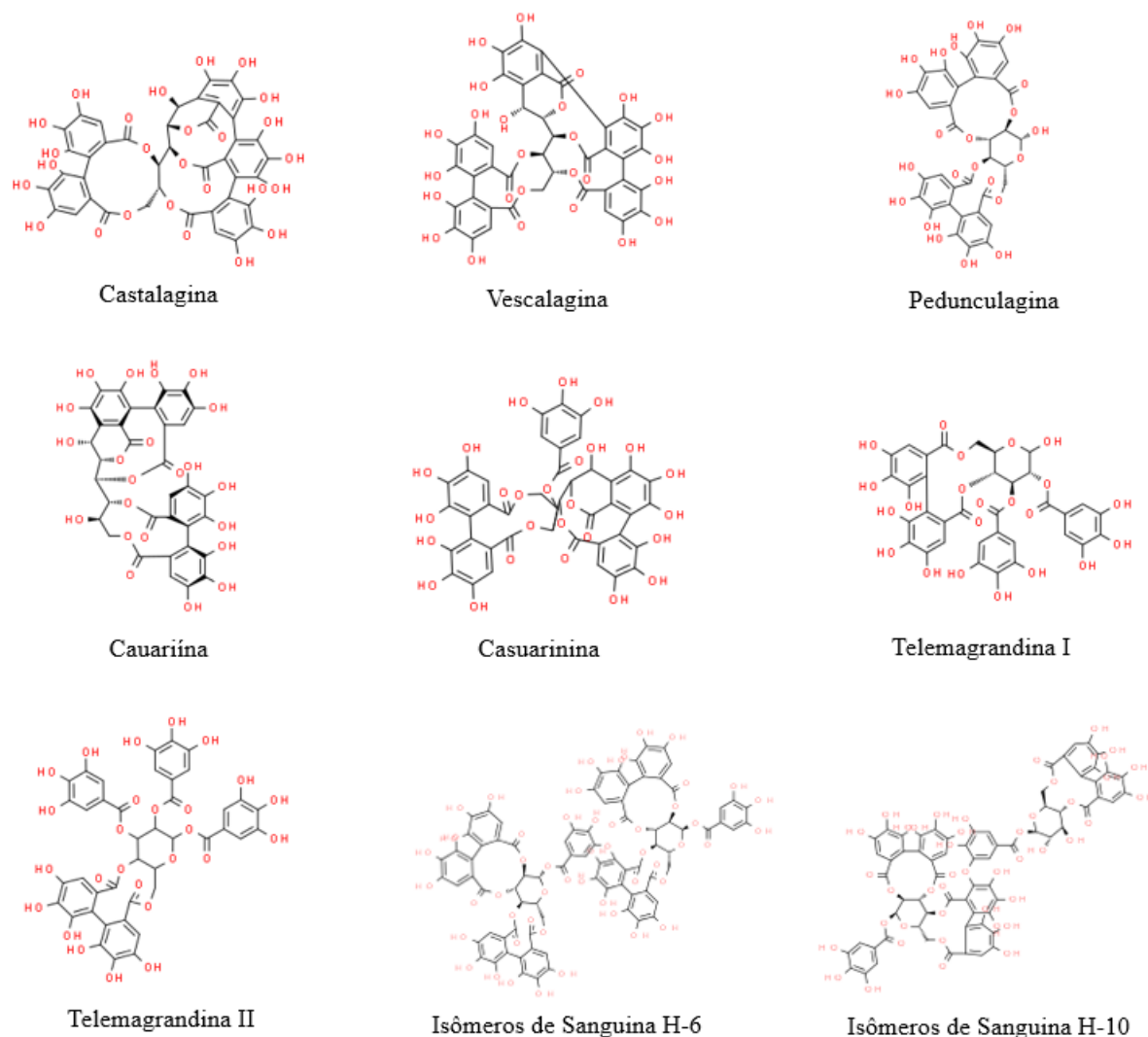
Dentre as principais diferenças encontradas entre as espécies, destacam-se as características morfológicas da árvore e o do fruto. A *M. trunciflora* é a espécie com maior potencial de altura (6 a 14 metros) em comparação à *M. cauliflora* (4 a 9 metros) e *M. jaboticaba* (4 a 6 metros). Polpa doce e baga globosa de 2,2 cm a 2,8 cm de diâmetro são características da jaboticaba Sabará, características similares são observadas na jaboticaba de cabinho e paulista. A jaboticaba paulista além de possuir a casca roxo-negra e lisa, semelhante às duas outras espécies, é também brilhante (Lorenzi, 2016). Acerca da composição química, especialmente em fenólicos, apenas um trabalho descreveu a comparação entre essas espécies, no qual os derivados de quercetina e as antocianinas são maiores na espécie paulista, enquanto derivados de ácido elágico totais são maiores na espécie sabará (5.000 mg/100 g) em comparação à espécie paulista (2.000 mg/100 g) (Alezandro et al., 2013).

É característico da jaboticabeira o desenvolvimento dos frutos no caule da árvore, podendo esta florescer até duas vezes no ano, comumente no início da primavera (Lorenzi, 2016). A casca da jaboticaba possui aproximadamente de 1,5 a 2,0 mm de espessura, quando imatura possui cor verde e à medida que amadurece escurece até atingir a cor preta-púrpura. O fruto pode pesar entre 2 g e 5 g, e apresentar de 1 a 4 sementes em seu interior (**Figura 4**) (Inada et al., 2021; Zhang et al., 2018). Quanto às características sensoriais, a jaboticaba possui polpa esbranquiçada e viscosa, com gosto doce, o que se deve à presença de açúcares simples como frutose, glicose e sacarose (Inada et al., 2015; Seraglio, et al., 2018), e levemente ácido (Dias et al., 2016), devido à presença de ácidos orgânicos, como ácido cítrico, málico e succínico (Albuquerque et al., 2020). A adstringência é causada principalmente pelo alto teor de elagitaninos e outros compostos fenólicos presentes na casca (Oliveira et al., 2019).



**Figura 4.** Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) e suas frações (Fonte: Inada et al., 2015).

Estudos reportaram elevado teor de fibras na jaboticaba, que variam entre 17,9 a 19,3 mg/100 g, podendo apresentar um teor próximo a 38% (Alejandro et al., 2013; Inada et al., 2015). Enquanto a casca concentra os maiores teores de compostos fenólicos, a polpa pode ser considerada fonte nutricional de ferro, cobre, manganês e vitamina C, pois segundo Inada e colaboradores (2015), a ingestão de um copo pequeno de polpa (200 mL) contribui com mais de 15% da RDA desses micronutrientes. Diversos estudos relatam elevado teor de compostos fenólicos na jaboticaba, sendo mais de 80 compostos já identificados no fruto inteiro, suas frações e produtos a base de jaboticaba, dos quais destacam-se as antocianinas, galotaninos, elagitaninos e seus derivados (Inada et al., 2021). A cianidina-3-*O*-glicosídeo (280 mg/100 g) e a delphinidina-3-*O*-glicosídeo (48 mg/100 g) são as principais antocianinas presentes na jaboticaba (Inada et al., 2015). Enquanto, os principais elagitaninos são a castalagina (78,4 mg/100 g), vescalagina (28,7 mg/100 g), peduncalagina (9,8 mg/100 g), cauariína (5,9 mg/100 g), casuarinina (34,3 mg/100), telemagrandina I (21,7 mg/100 g), telemagrandina II (30,5 mg/100 g), casuarictina (34,4 mg/100 g), isômeros de sanguina H-10 (9,3 a 96 mg/100 g) e sanguina H-6 (1 a 84,8 mg/100 g) (Alejandro et al., 2013; Silva et al., 2016; Wu et al., 2012) (**Figura 5**).



**Figura 5.** Estruturas dos elagitaninos presentes na jabuticaba (chemspider.com).

Majoritariamente, os compostos fenólicos da jabuticaba estão presentes na sua forma solúvel na polpa e na casca (90% e 89%, respectivamente) e insolúveis na semente (56%) (Inada et al., 2015). Quatrin et al. (2019) corroboram esses dados e relataram que, em média, 90% dos fenólicos da casca de jabuticaba foram encontrados na forma solúvel. Assim, pode-se argumentar que a maioria dos estudos subestima o conteúdo de polifenóis na jabuticaba em pelo menos 10%, e nas sementes de jabuticaba em pelo menos 44%. Entre os compostos fenólicos insolúveis estão os elagitaninos e seus derivados, no qual grande fração dessas moléculas é encontrada ligadas covalentemente a componentes da parede celular e macromoléculas, o que pode contribuir para a sua subestimação. De fato, Inada e colaboradores (2019) observaram que 62% dos teores de elagitaninos, ácido gálico e derivados do ácido elágico foram encontrados na fração insolúvel da casca e da semente da

jabuticaba, sendo liberados após hidrólise ácida, sugerindo que esses compostos costumam ser subestimados. Dessa forma, muitos trabalhos divergem na forma de expressar os valores podendo apresentar apenas alguns elagitaninos de interesse, total de ácido elágico livre ou ácido elágico total (equivalente de ácido elágico após hidrólise química). Entre as principais extrações realizadas para quantificação de elagitaninos e seus derivados em alimentos, estão: extração com solventes aquosos- orgânicos, extração de constituintes insolúveis após hidrólise alcalina e hidrólise ácida, extração de constituintes solúveis seguida de extração em fase sólida e hidrólise ácida total (de compostos solúveis e insolúveis) (Inada et al., 2021).

Pereira e colaboradores (2017) verificaram, na casca da jabuticaba, teores de vescalagina variando de 4,1 a 9,0 mg/100 g, não tendo sido observado a castalagina. Já na polpa e na semente, os teores de vescalagina variaram de 18,7 a 103 mg/100 g e de 953,0 a 2.817 mg/100 g, respectivamente. Acerca da castalagina, os teores na polpa variaram de 52,0 a 151,0 mg/100 g, e na semente de 1.757 a 2.553 mg/100 g. Em relação ao teor de ácido elágico livre, a fruta inteira apresenta cerca de 15,4 a 52 mg/100 g (Alezandro et al., 2013; Inada et al., 2015; Reynertson et al., 2008; Wu et al., 2012). Nas frações da jabuticaba, foi verificado na casca um valor de 20 a 830 mg/100g, na polpa de 5,3 a 8,3 mg/100 e na semente de 55,9 a 83 mg/100 g (todos os dados expressos em base seca) (Alezandro et al., 2013; Batista et al., 2013; Inada et al., 2015; Pereira et al., 2017).

Devido à presença de compostos fenólicos, assim como outros fitoquímicos alguns estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaios clínicos com seres humanos reportaram os potenciais efeitos benéficos da jabuticaba na saúde. Estudos *in vitro* observaram atividades antimicrobiana, antimoral, antioxidante, antiinflamatória, anti-hipertensiva e neuroprotetora. Já em estudos *in vivo* reportaram atividades antioxidante, hipolipidêmica, antidiabetogênica, hepatoprotetora, neuroprotetora, dentre outras (Inada et al., 2021).

### **2.1.3 Bioatividade de elagitaninos**

Dentre os compostos fenólicos, os elagitaninos têm recebido muita atenção da comunidade acadêmica devido às suas possíveis propriedades antioxidantes, neuroprotetoras, hipolipidêmico, entre outras (González-Sarrías et al., 2016; García-Villalba et al., 2023). Em uma meta-análise com 128 ensaios clínicos randomizados investigou-se o efeito do consumo de frutas vermelhas e uvas tintas/vinho como fonte de antocianinas, e nozes e romã como fonte de elagitaninos sobre biomarcadores de risco cardiometabólico. Os resultados indicaram



que tanto os alimentos fonte de elagitaninos, quanto os fonte de antocianinas, reduziram o colesterol total, ao passo que os alimentos fonte de elagitaninos reduziram de forma mais significativa o colesterol LDL, triglicédeos, glicose e a circunferência de cintura (García-Conesa et al., 2018).

González-Sarrías e colaboradores (2016) avaliaram o efeito do consumo por três semanas, de extrato de romã, uma das principais fontes alimentares de elagitaninos, sobre biomarcadores de risco cardiovascular em indivíduos saudáveis com sobrepeso ou obesidade. Considerando toda a população estudada, o consumo do extrato não promoveu melhoras significativas em tais biomarcadores. No entanto, ao estratificar os voluntários de acordo com o seu metabotipo de elagitaninos, ou seja, sua capacidade em produzir metabólitos microbianos específicos, os autores observaram que o consumo do extrato apresentou efeitos significativos apenas nos indivíduos metabotipo B, que apresentaram maior risco cardiovascular, reduzindo de forma significativa alguns biomarcadores, como LDL, LDL-oxidado e apolipoproteína B.

O consumo de elagitaninos e ácido elágico também tem sido descrito por seus benefícios sobre a saúde cerebral em ensaios clínicos, discussão levantada na revisão de García-Villalba e colaboradores (2023). Dentre os efeitos observados, pode-se citar a melhora da memória, da função cognitiva e do humor, e a redução da fadiga e da insônia. De maneira mais específica, os autores também discutiram os dados de Ropacki e colaboradores (2013) que observaram que o consumo de extrato de romã protegeu pacientes submetidos a cirurgias eletivas de coração contra *déficits* na retenção de memória comuns no pós-operatório, em comparação ao placebo, bem como resultou em melhora da retenção de memória em comparação ao período basal pré-cirurgia. Além disso, Ross e colaboradores (2021) observaram que bebês cujas mães consumiram suco de romã ( $n= 56$ ) durante a gestação apresentaram menor risco de lesões cerebrais, em comparação ao placebo ( $n= 47$ ).

Sabe-se que os elagitaninos e o ácido elágico são pouco absorvidos e precisam ser extensivamente metabolizados pela microbiota colônica em seus metabólitos, as urolitinas. No entanto, ainda não se sabe qual(is) metabólito(s) é/são responsável(is) por tais efeitos na saúde. Evidências crescentes sugerem que as urolitinas, especialmente a urolitina A e/ou outras urolitinas, possam ser os metabólitos responsáveis por tais efeitos bioativos. Nesse sentido, a classificação dos indivíduos em metabotipos é essencial para compreender melhor quais metabólitos são responsáveis por tais efeitos (García-Villalba et al., 2023). Uma outra suposição levantada por esses autores seria os efeitos indiretos dos elagitaninos e das

urolitinas sobre a saúde cerebral, por meio da modulação da microbiota colônica. Nesse caso, microorganismos intestinais modulados por elagitaninos poderiam preservar a integridade da barreira intestinal e regular o eixo intestino-cérebro através de vias endócrinas, metabólicas e/ou imunológicas.

Ainda no que se refere à saúde cerebral, estudos recentes têm indicado os efeitos benéficos das urolitinas na prevenção e tratamento da doença de Alzheimer. Tu e colaboradores (2023) reportaram que a urolitina A reduziu significativamente a atividade do DYRK1A (*dual-specific tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A*) em camundongos, acarretando a desfosforilação da proteína tau e a polimerização dos microtúbulos. Além disso, os autores observaram que a administração de urolitina A proporcionou efeitos neuroprotetores ao inibir a produção de citocinas inflamatórias causadas pela proteína amilóide  $\beta$ . Em um outro estudo, a urolitina A também se mostrou promissora no tratamento da doença de Alzheimer associada ao diabetes mellitus, por reduzir a formação da membrana do retículo endoplasmático dependente de transglutaminase tipo 2, mantendo a homeostase do cálcio mitocondrial em células de linhagem celular de neuroblastoma SH-SY5Y (Lee et al., 2021).

A romã tem sido descrita por seus efeitos antidiabéticos, especificamente contra a diabetes mellitus tipo 2 (Banihani et al., 2013). De acordo com estes autores, um dos mecanismos-chave responsáveis por esses efeitos seria a redução do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica (Banihani et al., 2013). Outro alimento fonte de elagitaninos que também já foi descrito por seus efeitos na prevenção e tratamento da diabetes foi a jabuticaba. Coloni e colaboradores (2020) reportaram que o extrato de jabuticaba administrado por 30 dias foi capaz de reduzir significativamente o colesterol não-HDL e os triglicerídeos, e aumentar o HDL e a capacidade antioxidante total no soro de ratos diabéticos. Os autores observaram ainda, que a ingestão de farinha de jabuticaba atenuou o ganho de massa corporal em ratos com obesidade induzida. Soares (2020) também observaram o efeito do consumo de jabuticaba na melhora da resistência à insulina em ratos, além de outros parâmetros metabólicos associados à obesidade como a inflamação e dislipidemia.

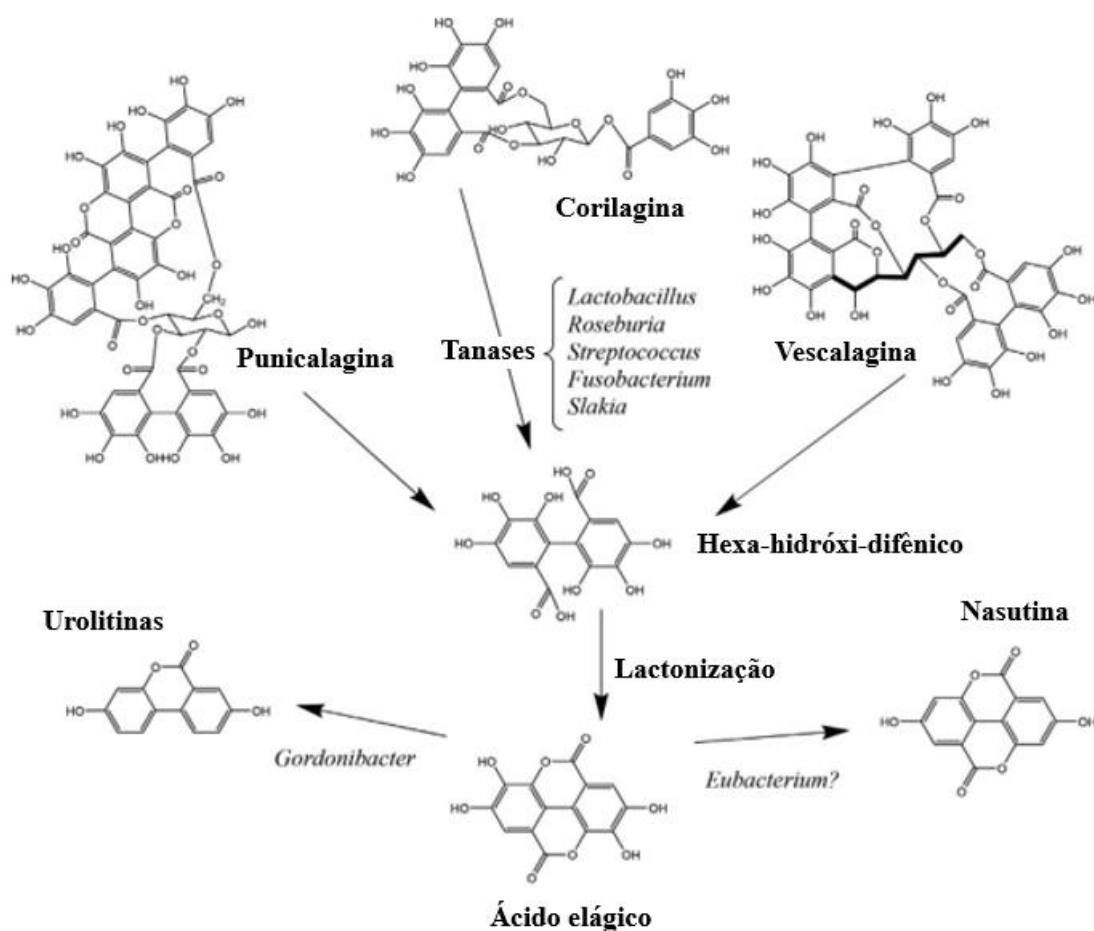
Por fim, o extrato de romã contendo alto teor de elagitaninos e derivados já foram descritos como agentes promissores para combater o vírus SARS-Cov-2 e atenuar a resposta inflamatória do hospedeiro (Alexova et al., 2023). Em outro trabalho, o suco de romã atenuou a dor nos músculos flexores do cotovelo, após extenuante exercício excêntrico (Trombold et al., 2011). Diante disso, pode-se concluir que há evidências crescentes sobre os efeitos

benéficos de alimentos fontes de elagitaninos na prevenção e tratamento de doenças, principalmente as de cunho metabólico.

Os elagitaninos não são biodisponíveis e os efeitos biológicos dependem da forma como esses compostos são metabolizados. Por exemplo, as propriedades hipolipemiantes da romã permanecem controversas, provavelmente devido à variabilidade interindividual no metabolismo dos elagitaninos (González-Sarrías et al., 2016). A modulação da microbiota após o consumo de 33 g de nozes por 3 dias, foi significativa apenas em participantes categorizados como metabotipo B (García-Mantrana et al., 2019). Portanto, compreender o metabolismo dos elagitaninos pode ser o ponto chave para entender os efeitos biológicos desses compostos na saúde humana.

## 2.2 Metabolismo de elagitaninos

Diversos estudos indicam que os elagitaninos não são absorvidos em sua forma original (Cerdá et al., 2005; Espín et al., 2007; González-Barrio et al., 2012; Mertens-Talcott et al., 2006; Seeram et al., 2004). Portanto, a identificação de ácido elágico pode ser usado para quantificar indiretamente os elagitaninos presentes em alimentos, e como biomarcador do metabolismo de elagitaninos. Acredita-se, que as ligações éster dos elagitaninos são hidrolisadas lentamente ao longo do trato gastrointestinal, nas condições de pH do estômago e do duodeno. A partir do intestino grosso, a microbiota colônica, por meio de suas enzimas, propicia a biotransformação dos elagitaninos ou ácido elágico livre em urolitinas, metabólitos que possuem maior bioatividade e biodisponibilidade que seus precursores (García-Villalba et al., 2019; Sharifi-Rad et al., 2022) (**Figura 6**).

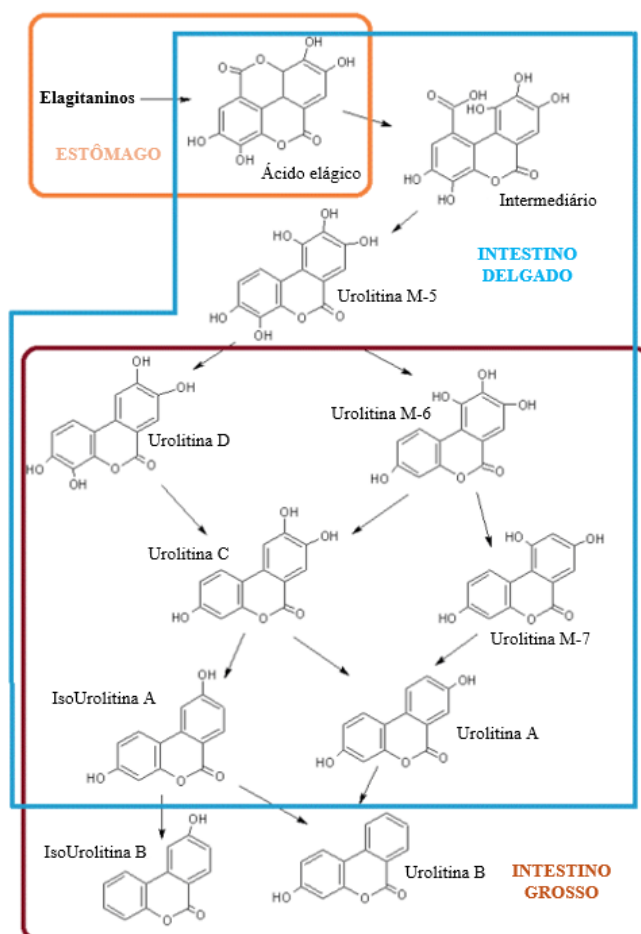


**Figura 6.** Transformação dos elagitaninos em ácido hexahidroxidifênico e, posteriormente, em ácido elágico. Catabolismo do ácido elágico em urolitinas e nasutinas pela microbiota intestinal. (Fonte: Tomás-Barberán et al., 2016).

Estudos farmacocinéticos demonstram que o ácido elágico pode ser absorvido entre 30 e 60 minutos após a ingestão, o que indica o início da sua absorção ainda no estômago (Tomás-Barberán et al., 2009). Apesar disso, dentre os metabólitos produzidos e identificados na urina e no sangue, o ácido elágico não é o majoritário. Inada e colaboradores (2019) ofertou de forma aguda 20 g de farinha de casca e semente de jabuticaba na forma de sobremesa gelatinosa (734 mg de ácido elágico total, 63 mg de ácido elágico solúvel, 148,1 mg de vescalagina e 179,6 mg de castalagina), para indivíduos eutróficos ou com sobrepeso/obesidade. Após o consumo, foi identificado ácido elágico na urina de somente em 13 dos 35 voluntários recrutados, que corresponderam a somente cerca de 0,6% do total de metabólitos excretados. Cabe destacar que um fator que pode dificultar a identificação do ácido elágico e mascarar a sua biodisponibilidade é a sua conversão em formas metiladas e

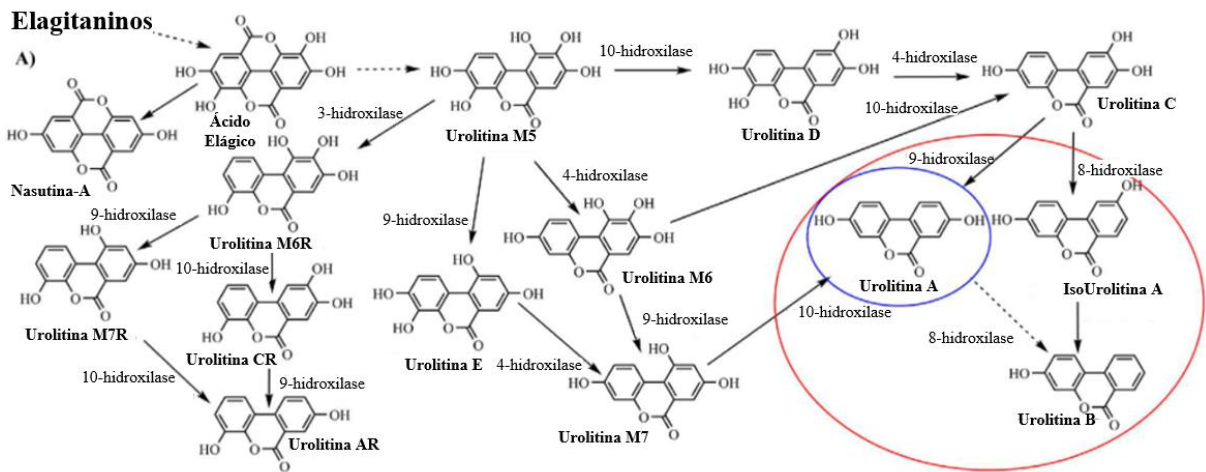
conjugadas, como o ácido elágico dimetilado glucuronídeo ou outras formas derivadas, que posteriormente podem ser metabolizadas pela microbiota colônica em derivados de dibenzopirano-6H-6-ona (Lipińska et al., 2014).

Uma vez no cólon, os elagitaninos, ou o ácido elágico, são metabolizados pela microbiota intestinal a urolitinas (**Figura 7**). Ainda não se sabe se é necessária a hidrólise dos elagitaninos em ácido elágico ou se as urolitinas podem ser produzidas diretamente a partir dos elagitaninos (Tomás-Barberán et al., 2017). Acredita-se que a urolitina M5, um metabólito intermediário, seja produzido a partir de ácido elágico após abertura do anel lactona e remoção do grupo carboxila. Por meio da desidroxilação, ocorre a formação da urolitina D, que ao sofrer sucessivas desidroxilações dão origem às urolitinas C, urolitina A, isourolitina A e urolitina B (Kang et al., 2016) (**Figura 7**). Até o momento já foram identificadas trezes urolitinas e seus conjugados, glucuronidados e sulfatados, em diferentes fluidos e tecidos humanos, como sangue, urina, fezes, leite materno, próstata, cólon e tecidos mamários (García-Villalba et al., 2022; Iglesias-Aguirre et al., 2023).



**Figura 7.** Metabolismo dos elagitaninos ao longo do sistema gastrointestinal (Fonte: Lipińska et al., 2014).

Tomás-Barberán et al. (2014) propuseram a estratificação dos indivíduos em três metabotipos: metabotipo A (UM-A), metabotipo B (UM-B) e metabotipo 0 (UM-0), baseado na capacidade dos indivíduos em produzir determinados metabólitos. Aqueles que produzem somente urolitina A, são denominados como UM-A, ao passo que os produtores de urolitina B, isourolitina A e/ou urolitina A são classificados como UM-B. Já os indivíduos não produtores dessas urolitinas são classificados como UM-0 (**Figura 8**). Em indivíduos saudáveis e eutróficos, foi relatado uma predominância de indivíduos UM-A (50% a 80%), seguidos de UM-B (10% a 40%) e UM-0 (5% a 10%) (Tomás-Barberán et al., 2014; Truchado et al., 2012; Zhang et al., 2020).



**Figura 8.** Catabolismo do ácido elágico em urolitinas. Os círculos delimitam especificamente as urolitinas finais para cada metabotipo, sendo vermelho para indivíduos metabotipo B e azul para indivíduos metabotipo A (Fonte: Cortés-Martín et al., 2020).

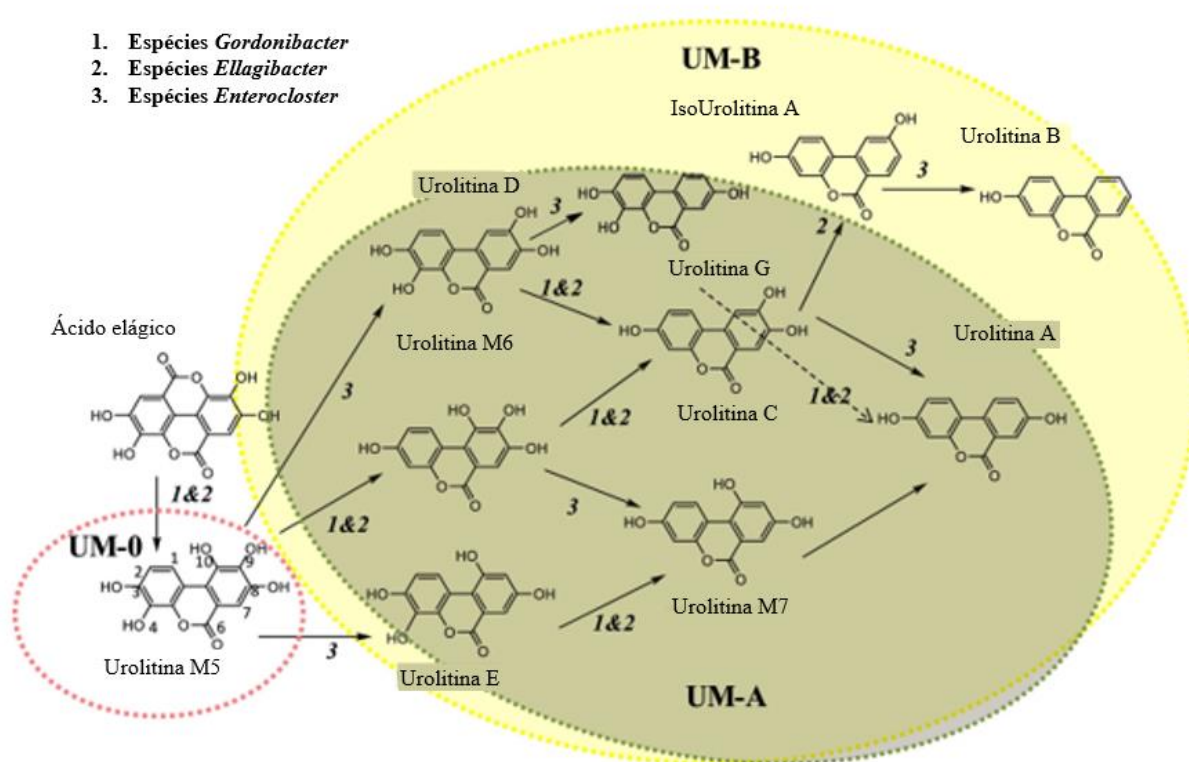
No entanto, a distribuição de voluntários frente ao metabotipo, parece modificar conforme a característica da população a ser estudada. Por exemplo, uma distribuição similar entre UM-A e UM-B já foi relatada em indivíduos com pré-diabetes e com câncer colorretal, (Nuñez-Sánchez et al., 2014; Zhang et al., 2020). Em comparação ao estado nutricional, Inada e colaboradores (2019) relataram uma maior prevalência de indivíduos UM-0 (26,3%) e menor prevalência de UM-B (21,1%) em indivíduos eutróficos em comparação com indivíduos com sobrepeso/obesidade (UM-0: 6,3% e UM-B: 37,5%). Dados similares já haviam sido previamente relatados por outros autores (Selma et al., 2018; Tomás-Barberán et al., 2014). Em contraste, Leite (2023) verificou uma distribuição semelhante entre UM-A (em média 44,3 %) UM-B (em média 37,1%) em voluntários com sobrepeso e obesidade.

A idade é um outro fator que parece influenciar o metabolismo de elagitaninos. Enquanto a prevalência de UM-A diminui em função da idade, o UM-B aumenta (principalmente na faixa etária de 20 a 40 anos) e UM-0 permanece constante próximo de 10% (independentemente da idade) (Cortés-Martin et al., 2018). Cortés-Martin e colaboradores (2018) também observaram uma associação significativa entre todas as idades e o metabotipo de elagitaninos, tendo a razão da prevalência UM-A/UM-B diminuída de 9 vezes para 1,3 vezes, na faixa etária de 5 a 10 anos e de 40 a 90 anos, respectivamente. De encontro a esses resultados, Leite (2023) observou que para os voluntários entre 19 a 30 anos, o percentual de UM-A variou de 39% a 50%, UM-B de 39% a 43% e UM-0 de 11% a 21%. Nos voluntários na idade entre 31 e 40 anos, foi observado um percentual de 26% a 32% de UM-A, 42% a 53% de UM-B e 11% a 26% de UM-0. Já para os voluntários com idade acima de 40 anos, o percentual de UM-A variou de 8% a 17%, UM-B de 75% a 83% e UM-0 de 0% a 17%. Apesar dessa relação entre a idade e o metabotipo, a etiologia dessa distribuição do metabotipo em função da idade permanece sem respostas (Cortés-Martin et al., 2018).

Como descrito no item anterior, alguns efeitos bioativos têm sido associados a metabólitos microbianos específicos e, por isso, os efeitos benéficos dos elagitaninos dependem da sua metabolização no organismo de cada indivíduo. Assim, acredita-se que, por esse motivo, alguns ensaios clínicos tenham reportado resultados controversos sobre os efeitos de elagitaninos na saúde humana, o que pode ser justificado pela grande variabilidade metabólica interindividual, mediada principalmente por diferenças na composição da microbiota intestinal dos indivíduos (Iglesias-Aguirre et al., 2023; Inada et al., 2019). Nesse sentido, a estratificação em metabotipos pode contribuir para melhor compreensão dos efeitos biológicos dos elagitaninos em ensaios clínicos. Como exemplo, já foi relatado que somente os indivíduos UM-B se beneficiaram da suplementação crônica com extrato de romã, apresentando melhora em biomarcadores de risco cardiovascular (González-Sarrías et al., 2016).

Quanto à composição da microbiota colônica responsável pela produção de urolitinas, o gênero *Gordonibacter* já foi relatado como sendo o predominante em indivíduos UM-A, metabolizando ácido elágico nas urolitinas M5, M6 e C, ao passo que o gênero *Elagibacter* converte ácido elágico em urolitinas M5, M6, C e isourolitina A (**Figura 9**). Ambos os gêneros são capazes de converter urolitina D e urolitina M6 em urolitina C, através das atividades das enzimas 4-desidroxilase e 10-desidroxilase, respectivamente. No entanto, não são capazes de produzir a urolitina A a partir de urolitina C, nem a urolitina B a partir da

urolitina A. Além disso, *Gordonibacter* e *Elagibacter* não produzem os metabólitos intermediários (urolitina E ou urolitina M7) a partir do ácido elágico (Iglesias-Aguirre et al., 2023). Bactérias pertencentes à família *Eggerthellaceae*, *Gordonibacter urolithinifaciens* e *Gordonibacter pamelaiae* são capazes de produzir urolitinas a partir de elagitaninos, enquanto a *Elagibacter isourolithinifaciens* pode metabolizar o ácido elágico em isourolitina A (Cabalero et al., 2022). Estudos têm demonstrado que mais de 30% das bactérias que diferem em indivíduos com metabotipos A e B pertencem à família *Eggerthellaceae* (Iglesias-Aguirre et al., 2023).



**Figura 9.** Via metabólica proposta do ácido elágico por cepas dos gêneros *Gordonibacter* (1), *Elagibacter* (2) e *Enterocloster* (3), incluindo o isolado *E. bolteae* CEBAS S4A9. (1) *Gordonibacter urolithinifaciens* e *G. pamelaiae*; (2) *Elagibacter isourolithinifaciens*; (3) *Enterocloster bolteae*, *E. asparagiformis* e *E. citroniae* (Fonte: Iglesias-Aguirre et al., 2023).

Recentemente, Iglesias-Aguirre e colaboradores (2023) identificaram, de forma inédita, uma bactéria isolada das fezes de uma mulher saudável capaz de produzir urolitina A a partir da urolitina C, e formação da urolitina B a partir da isourolitina A. Após a verificação da sequência genética, observou-se que esta pertencia à espécie *Enterocloster bolteae* da família *Lachnospiraceae* (Figura 9).



Muito são os fatores que podem influenciar na composição da microbiota, como por exemplo, alimentação, uso de antibióticos, prebióticos ou probióticos, idade, condições de saúde e o estado nutricional (Villanueva-Millan et al., 2015). A alimentação inadequada e o sedentarismo estão associados à disbiose e, conseqüentemente, relacionadas à inflamação sistêmica e ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Redondo-Useros et al., 2020; Strasser et al., 2021). Mudanças nos hábitos alimentares associadas à prática de exercícios físicos, por sua vez, podem resultar em perda de gordura corporal e, conseqüentemente, na mudança da composição da microbiota (Aragón-Vela et al., 2021; Vrieze et al., 2010;).

Algumas espécies de microrganismos têm sido associadas ao estado nutricional, como por exemplo, a razão *Firmicutes/bacteroidetes* (Mahan & Raymond, 2018). Em uma intervenção dietética para redução de peso corporal, observou-se que a redução da massa gorda em indivíduos com obesidade resultou em aumento significativo na abundância bacteriana total, bem como na redução da proporção de *Firmicutes/Bacteroidetes* (Vrieze et al., 2010). Assim, considerando que o estado nutricional pode influenciar no perfil da microbiota colônica e, conseqüentemente, no metabolismo de compostos fenólicos e seus efeitos benéficos na saúde, torna-se essencial a avaliação da composição corporal dos indivíduos em ensaios clínicos que investiguem a metabolização dos elagitaninos e os seus efeitos bioativos.

Nesse sentido, Tomás-Barberán e colaboradores (2014) observaram uma relação entre a distribuição de metabotipos e o estado nutricional, com maior prevalência de UM-B em indivíduos com obesidade. No entanto, cabe destacar aqui que a maioria dos estudos realizados utilizou o índice de massa corporal (IMC) para avaliar o estado nutricional dos indivíduos. O IMC é um índice que expressa a quantidade de massa corporal distribuída pela área corporal, que apesar de ser comumente utilizado em estudos epidemiológicos, apresenta limitações, pois não fornece informações acerca do percentual de gordura corporal (Filho et al., 2019). Diante disso, outras variáveis antropométricas podem ser utilizadas para a avaliação do estado nutricional e adiposidade, tais como o perímetro de cintura e de abdômen, a relação cintura-quadril (RCQ), percentual de gordura, índice de massa muscular e massa adiposa, somatório de dobras cutâneas e diâmetro anteroposterior de abdômen (Filho et al., 2019; Pompeu, 2020).

Assim como tais variáveis antropométricas são consideradas indicadores de risco cardiovascular, a classificação dos indivíduos em metabotipos também apresenta tal potencial.

Estudos apontam que indivíduos classificados como UM-B possuem um maior risco cardiometabólico, enquanto indivíduos UM-A parecem apresentar efeito cardioprotetor (González-Sarrías et al., 2016; Selma et al., 2018). No entanto, poucos trabalhos têm buscado avaliar a relação entre o metabotipo e tais parâmetros antropométricos. Recentemente, em estudo realizado com mulheres saudáveis pós-parto, observou-se que mulheres UM-A apresentaram menor perímetro da cintura, enquanto as voluntárias UM-B apresentaram maior IMC, perímetro de cintura e RCQ (Cortés-Martin et al., 2019). Por outro lado, Leite (2023) reportou relação entre o metabotipo e o percentual de gordura acessado por bioimpedância elétrica, no qual voluntários com alta adiposidade apresentaram maior prevalência do UM-A (41,4%) e menor prevalência de UM-B (48,3%) e UM-0 (10,3%) comparado aos indivíduos com adiposidade adequada (16,7% UM-A, 60% UM-B e 23,3% UM-0).

Algumas pesquisas têm investigado ainda, o efeito do consumo de elagitaninos sobre a composição corporal. Um estudo clínico avaliou o efeito da intervenção com pistache, fonte de elagitaninos, por 24 semanas, sobre o risco cardiometabólico em asiáticos com síndrome metabólica. Os resultados demonstraram que o grupo que consumiu pistache, em comparação ao grupo controle, apresentou redução significativa no perímetro de cintura, indicando perda de gordura central, porém sem redução significativa da massa corporal (Gulati et al., 2014).

No entanto, o entendimento da relação entre a composição corporal e o metabotipo de elagitaninos parece não estar totalmente elucidado e, por isso, são necessários mais estudos que utilizem técnicas antropométricas adequadas e com maior amplitude de variáveis.

### **2.3 Efeito de processamentos tecnológicos no perfil de elagitaninos em alimentos**

Na parede celular vegetal, além de carboidratos e proteínas, há compostos fenólicos que interagem com os polissacarídeos. Tais compostos podem ser encontrados sob a forma solúvel, livres na matriz, ou insolúvel, quando ligados à matriz de vegetais. Assim, ao serem ingeridos, a forma em que os compostos se encontram na matriz alimentar vão influenciar a bioacessibilidade no lúmen intestinal e, conseqüentemente, sua absorção e biodisponibilidade. Além da interação do composto com a matriz alimentar, a complexidade da molécula também pode facilitar ou dificultar a sua absorção e transporte (Velderrain-Rodríguez et al., 2014).

Como descrito anteriormente, os elagitaninos possuem alto peso molecular e não são absorvidos em sua forma original, precisando ser extensivamente metabolizados para que possam ser absorvidos (González-Sarrías et al., 2015; Lipińska et al., 2014). Somado a isso,

algumas matrizes alimentares, como a jabuticaba, apresentam a maior parte dos elagitaninos e seus derivados sob a forma insolúvel (Inada et al., 2020). Diante disso, torna-se relevante o emprego de processamentos tecnológicos em alimentos que visem aumentar a bioacessibilidade e biodisponibilidade dos elagitaninos e ácido elágico, dentre as quais pode-se utilizar hidrólises enzimática, alcalina e ácida, alta pressão hidrostática, secagem por liofilização e por estufa, fermentação, dentre outros.

### **2.3.1 Alta Pressão Hidrostática**

A Alta Pressão Hidrostática (APH) consiste em uma técnica, na qual o produto é submetido a elevados níveis de pressão hidrostática (50 a 1000 MPa), sendo utilizada como alternativa aos métodos térmicos de conservação (Galanakis, 2021; Hogan et al., 2005). Essa técnica permite a inativação de microrganismos e enzimas, enquanto preserva as características sensoriais, nutricionais e os compostos bioativos (Lavinias et al., 2007; Lopes et al., 2010). Alguns estudos têm reportado ainda, que elevados níveis de pressão podem gerar modificações da matriz alimentar, promovendo aumento da extractabilidade e liberação de seus compostos bioativos, contribuindo para a sua potencial bioacessibilidade e biodisponibilidade (Gómez-Maqueo et al., 2021; Rodríguez-Roque et al., 2015; Trych et al., 2020; Vega-Gálvez et al., 2014). No entanto, os efeitos da APH sobre o perfil de compostos fenólicos nos alimentos podem variar tanto pelas condições de pressões aplicadas, quanto pelas características químicas individuais dos compostos (Inada et al., 2018).

Em relação ao efeito da aplicação da APH sobre os compostos fenólicos em produtos à base de jabuticaba, existem apenas dois trabalhos publicados (Inada et al., 2018; Inada et al., 2020). Inada e colaboradores (2018) investigaram o efeito da APH (200, 350 e 500 MPa por 5, 7,5 e 10 minutos) sobre os compostos fenólicos, atividade antioxidante e qualidade microbiológica do suco de jabuticaba. Os autores reportaram que o suco submetido a APH apresentou maior teor total de compostos fenólicos (cerca de 21,8%) comparado ao suco não pressurizado. O teor de ácido elágico foi maior, em média 2 vezes, no suco de jabuticaba processado em comparação ao suco não processado. No entanto, ao comparar entre as condições de pressurização (pressão e tempo), os autores não observaram diferença significativa. Um recente estudo realizado pelo mesmo grupo de pesquisa, no qual empregaram a APH na casca e semente de jabuticaba, os autores não observaram aumento significativo no teor total de compostos fenólicos nas amostras submetidas a APH (200 e 500

MPa por 1 min; 350 MPa por 5,5 min; 200 e 500 MPa por 10 min) comparados a amostra não processada (Inada et al., 2020). Pelo contrário, as condições de maior pressão e maior tempo resultaram em diminuições de 17% (350 MPa por 5,5 min) a 43% (200 MPa por 10 min) no teor total de compostos fenólicos.

No que concerne a investigação do efeito da aplicação da APH sobre a bioacessibilidade e/ou metabolismo de compostos fenólicos, poucos estudos são descritos na literatura. Nesse sentido, Gómez-Maqueo et al. (2021) verificaram que a bioacessibilidade de betalaínas dos frutos de figo da Índia tratados por APH (350 MPa, 5min) aumentou em comparação ao figo não processado. Os ácidos fenólicos foram mais resistentes à APH, e sua bioacessibilidade foi favorecida principalmente por mudanças na matriz alimentar, no qual, a extractabilidade após a etapa gástrica da digestão foi aumentada (ácido piscídico: 48,9 a 55,32 %; ácido 4-hidroxbenzóico: até 40%).

Em mirtilos, a APH (500 MPa, 15 min) promoveu o aumento da extractabilidade, a capacidade antioxidante e a bioacessibilidade dos compostos bioativos quando comparado aos métodos convencionais de extração com uso de solvente orgânico. Nessas condições de APH foi relatada maior bioacessibilidade de polifenóis (não antocianinas) e flavanoides (62,2%). No entanto, as antocianinas tiveram redução da sua bioacessibilidade (Briones-Labarca et al., 2019). Nas antocianinas, Trych e colaboradores (2020), por meio de um ensaio de digestão simulada em groselha preta, verificou que 45% das antocianinas estavam disponíveis após a fase gástrica, no entanto, na fase intestinal foi verificado uma diminuição drástica no teor de antocianinas, com redução de 72 e 44,5 vezes em comparação a amostra não digerida e fase gástrica, respectivamente. No entanto, após a aplicação da APH (200 e 400 MPa por 5 min), apesar de apresentar menor teor antes da digestão em comparação a fruta fresca (15% menor), a APH foi 27,5% e 53,7% (200 e 400 MPa por 5min, respectivamente), superior a amostra controle.

Nesse sentido, a APH pode ser utilizada em diferentes matrizes, atuando não somente como um método de conservação e preservando suas características sensoriais, nutricionais e de compostos bioativos, como também podendo contribuir para o seu potencial bioativo e funcional.

### 2.3.2 Secagem

Dentre os métodos de secagem artificiais, encontram-se a secagem em estufa e a liofilização. Na secagem em estufa com circulação de ar, o alimento é disposto uniformemente sobre uma bandeja, e a circulação de ar é feita por um ventilador situado atrás das resistências elétricas utilizadas para o aquecimento do ar de entrada. O decréscimo no teor de umidade do alimento é realizado em altas temperaturas, por convecção, através do fluxo de ar quente da estufa (Celestino, 2010). Já na liofilização, a secagem é realizada em baixas temperaturas e sob vácuo, e o teor de umidade do alimento é diminuído por meio da sublimação e dessorção. O liofilizador, também conhecido como *freeze-dryer*, utiliza um sistema de vácuo para desidratação, no qual o alimento deve ser introduzido congelado. A vantagem desse método é a maior retenção de características nutricionais e sensoriais e mais fácil reidratação do alimento (Celestino, 2010; Inada et al., 2019 *apud* Kharaghani et al., 2017).

Ambos os métodos de secagem podem influenciar o teor dos compostos bioativos em alimentos. Dos Santos Fontes e colaboradores (2019) não observaram diferença significativa no teor de licopeno de tomates submetidos à secagem por liofilização ou estufa. Almeida e colaboradores (2020) reportaram redução de 15,8% no teor de compostos fenólicos totais em casca de jabuticaba seca em estufa (50 °C por 24 h), em comparação à liofilizada (-18 °C por 48 h). Já Inada e colaboradores (2019) também avaliaram o efeito da secagem por liofilização e em diferentes condições de secagem em estufa (55 °C/14 h, 55 °C/22 h, 65 °C/18 h, 75 °C/14 h e 75 °C/22 h) para obtenção da farinha de casca e semente de jabuticaba, e observaram que a amostra liofilizada apresentou maior teor de ácido elágico e derivados (377 mg/100 g), em comparação às amostras desidratadas em estufa (em média 282,4 mg/100 g). Para o teor total de elagitaninos, valor similar foi observado ao comparar a amostra liofilizada (2.421 mg/100 g) e a amostra desidrata em estufa a 55 °C por 22 h (2.287 mg/100 g). No entanto, as amostras desidratadas em estufa, a 75 °C por 14 h e por 22 h, apresentaram teores superiores (17 e 22%, respectivamente) de elagitaninos quando comparado a amostra liofilizada. Tais resultados parecem demonstrar que a secagem em estufa a altas temperaturas é capaz de liberar os elagitaninos insolúveis da matriz alimentar.

Tendo em vista que a secagem é um método amplamente aplicado em alimentos, que possui grande potencial de aplicação em resíduos de alimentos, e seu baixo custo, torna-se

relevante desenvolver produtos por esse método de processamento e avaliar o metabolismo e, até mesmo, a bioatividade dos compostos fenólicos.

### 2.3.3 Hidrólise ácida

Conforme apresentado nos tópicos anteriores, os elagitaninos não são biodisponíveis e necessitam ser hidrolisados em moléculas menos complexas, para então serem absorvidos. Nesse sentido, alguns processamentos de alimentos, tais como fermentação, hidrólise enzimática, alcalina e ácida, têm apresentado potencial promissor de aplicação na ciência de alimentos como estratégias para liberar compostos fenólicos ligados à parede celular e/ou despolimerizá-los a compostos de menor peso molecular. A hidrólise ácida é inserida nesse contexto por se tratar de um processamento tecnológico simples e de baixo custo, que tem o objetivo de promover tanto a liberação dos elagitaninos da matriz alimentar, quanto a sua despolimerização em ácido elágico, tornando-os mais biodisponíveis (Acosta-Estrada et al., 2014; García-Villalba et al., 2015).

Em um recente trabalho do nosso grupo de pesquisa (Silva, 2019), a hidrólise ácida foi empregada como estratégia para despolimerização dos elagitaninos da casca e semente da jabuticaba. A hidrólise foi realizada com HCl 4 M a 90 °C, em diferentes tempos (1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h e 48 h). Os resultados apontaram que a hidrólise por 6 h foi a que resultou em maior liberação de ácido elágico total no resíduo (casca e semente) (1.748 mg/100g vs outros 194,9 a 1.039,2 mg/100 g), exceto quando comparado ao de 4 horas (1.689 mg/100 g). No entanto, o teor de ácido elágico total na semente de jabuticaba foi maior na hidrólise por 6 horas em comparação ao de 4 horas. Esse mesmo tempo de 6h de hidrólise ácida foi considerado o melhor para a hidrólise de elagitaninos da framboesa (Vrhovsek et al., 2006). Esses autores também verificaram o efeito da concentração de HCl (4 M e 2 M) na liberação dos elagitaninos e observaram que a hidrólise com HCl 4 M foi o tratamento mais rápido, ao considerar o intervalo de 1 h, para obter maior teor desses compostos. Em contrapartida, García-Villalba e colaboradores (2015) validaram um método para a quantificação de elagitaninos após hidrólise ácida, utilizando a romã como matriz. Os autores verificaram que o maior teor de ácido elágico foi obtido após a hidrólise ácida com HCl 4 M, a 90 °C, por 4 h. Dessa forma, os efeitos da hidrólise ácida para a liberação e/ou despolimerização de elagitaninos parecem variar de acordo com a matriz alimentar e com o perfil de elagitaninos presentes no alimento, assim como as condições de extração empregadas.

Com a maior liberação de ácido elágico, promovido pela hidrólise ácida, espera-se uma maior bioacessibilidade e biodisponibilidade desse composto. No entanto, González-Sarrías e colaboradores (2015) avaliaram o efeito da hidrólise ácida de extratos de romã sobre a bioacessibilidade e a biodisponibilidade de elagitaninos e derivados. Um extrato continha alto teor de elagitaninos e baixo teor de ácido elágico, e o outro continha alto teor de ácido elágico e baixo teor de elagitaninos. Após realização do ensaio de digestão gastrointestinal simulada, na etapa gástrica, foi verificado que o extrato com maior teor ácido elágico inicial liberou menos ácido elágico total comparado ao outro extrato, rico em elagitaninos, demonstrando que as condições estomacais podem ter despolimerizados esses elagitaninos. Após a etapa intestinal, a liberação de ácido elágico permaneceu constante para o extrato com alto teor de elagitaninos, enquanto aumentou cerca de 85 vezes no extrato com maior teor de ácido elágico livre. Nesse mesmo estudo, foi relatado que uma maior ingestão de ácido elágico livre não aumentou suas concentrações plasmáticas. No entanto, promoveu uma maior excreção urinária de urolitinas. Até onde se sabe, esse é o único estudo realizado com seres humanos, que se investigou o efeito da hidrólise ácida como forma de despolimerizar elagitaninos e liberar o ácido elágico livre.

### **3. JUSTIFICATIVA**

A partir da elaboração de produtos à base de jabuticaba, grandes quantidades de casca e semente, que possuem elevados teores de compostos fenólicos, em especial, os elagitaninos, são geradas. Tendo em vista os potenciais efeitos benéficos desses compostos na saúde, e visando o aproveitamento integral da fruta, torna-se relevante a aplicação de processamentos tecnológicos na casca e semente de jabuticaba, capazes de promover a despolimerização de elagitaninos e a sua liberação da matriz alimentar, favorecendo assim, a sua biodisponibilidade e metabolização.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Investigar o efeito da hidrólise ácida sobre os teores de compostos fenólicos e no metabolismo dos elagitaninos da casca e semente da jabuticaba, por meio de ensaio clínico com adultos eutróficos.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito da hidrólise ácida sobre o perfil de compostos fenólicos da casca e semente da jabuticaba, com ênfase nos elagitaninos;
- Investigar o efeito da hidrólise ácida sobre o metabolismo de elagitaninos da casca e semente de jabuticaba em indivíduos eutróficos.
- Investigar e comparar o perfil da composição corporal e forma corporal dos voluntários em função dos metabotipos de urolitinas.

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Obtenção, preparo e armazenamento da matéria-prima**

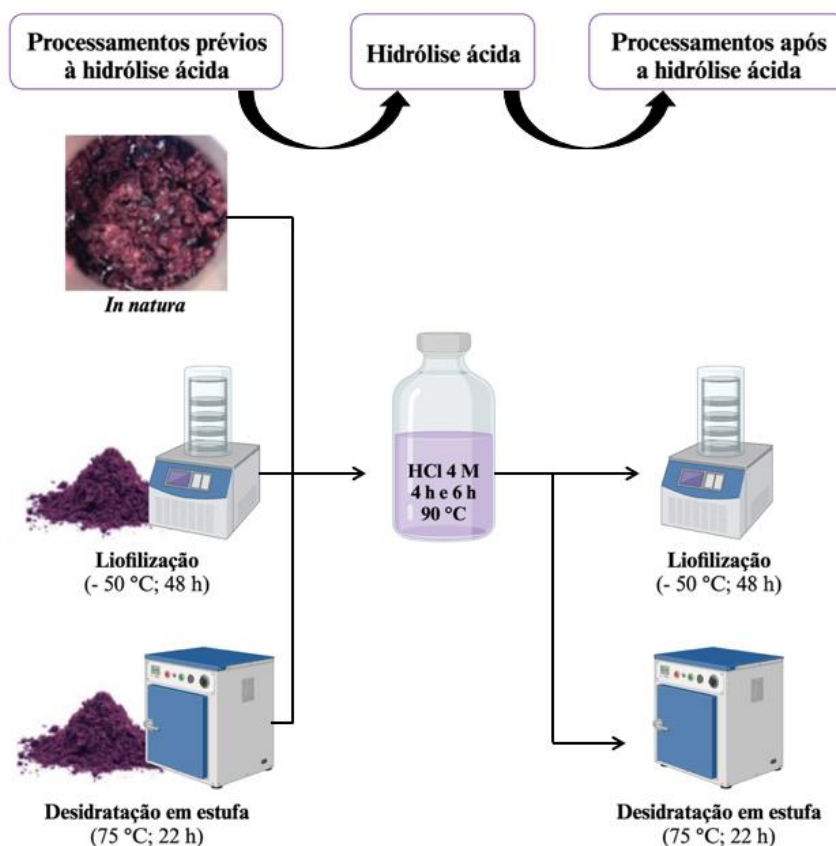
As jabuticabas foram adquiridas na Central de Abastecimento do Estado da Guanabara (CADEG, RJ), selecionadas e sanitizadas com hipoclorito de sódio (100 ppm por 15 min). A casca e a semente da jabuticaba foram obtidas a partir da elaboração do suco de jabuticaba, extraído por arraste a vapor em suquificador. A casca e a semente foram embaladas à vácuo (TecMaq, São Paulo, Brasil), congeladas a -20 °C e descongeladas sob refrigeração para posterior utilização. Testes preliminares desenvolvidos no laboratório mostraram a estabilidade dos compostos fenólicos da jabuticaba congelada, bem como a viabilidade de sua utilização para elaboração dos produtos derivados (Silva, 2019; Inada, 2018).

### **5.2 Elaboração das farinhas de jabuticaba**

Com o objetivo de despolimerizar os elagitaninos, promover a liberação de ácido elágico e seus compostos derivados e possivelmente aumentar a sua biodisponibilidade, a



casca e a semente da jabuticaba foram submetidas a diferentes processos de secagem (estufa e liofilização), assim como diferentes tempos de hidrólise ácida, conforme detalhados abaixo, e ilustrado na **Figura 10**.



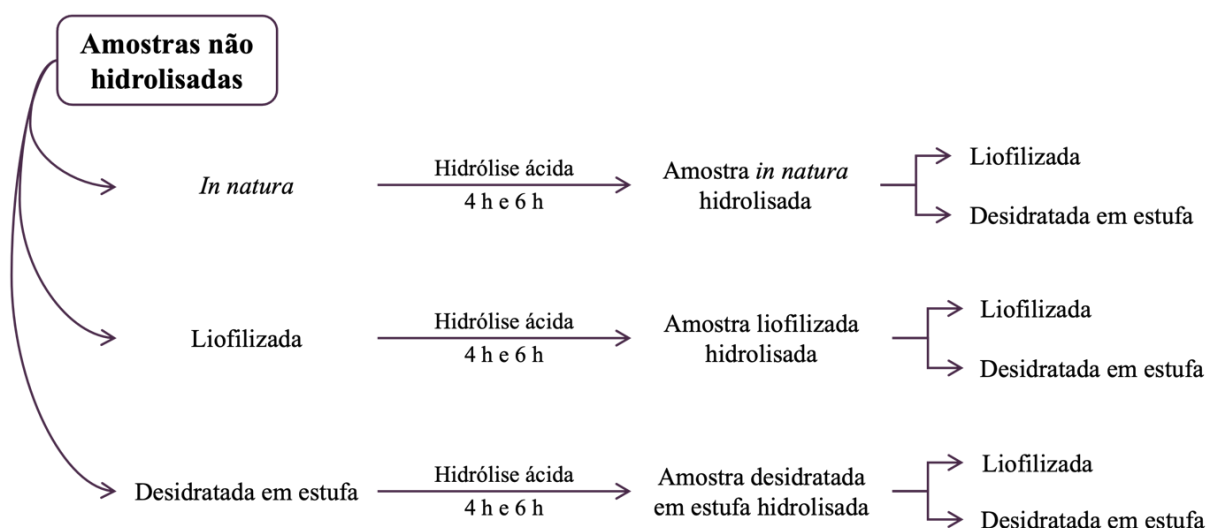
**Figura 10.** Condições de processamento empregados na casca e na semente da jabuticaba para a obtenção das farinhas de jabuticaba. Criado por BioRender.com

### 5.2.1 Desidratação da casca e semente da jabuticaba

Considerando os resultados prévios do grupo de pesquisa, com o objetivo de obter a farinha da casca e semente de jabuticaba com maior concentração de ácido elágico, e maior estabilidade química e microbiológica, as cascas e sementes de jabuticaba *in natura* foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar (75 °C por 22 h; Tecnal<sup>®</sup>, Piracicaba, Brasil) ou liofilizadas (-50 °C por 48 h; Labconco, Kansas, EUA) (Inada et al., 2020). Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho analítico (MF 10 Basic; IKA<sup>®</sup>, Staufen, Alemanha) para obtenção das farinhas de jabuticaba e armazenadas a -20 °C até o momento das análises.

### 5.2.2 Hidrólise ácida da casca e semente de jabuticaba

Para a hidrólise ácida as seguintes amostras da casca e semente da jabuticaba foram utilizadas: *in natura* trituradas em moinho analítico (i), desidratadas em estufa (ii) e liofilizadas (iii). Em um tubo de vidro tipo pyrex, amostras de casca e semente de jabuticaba seca (5 g) e fresca (20 g) foram adicionadas de HCl 4M (24 mL e 26 mL, respectivamente), e posteriormente as amostras foram incubadas a 90 °C durante 4 h e 6 h conforme a metodologia de García-Villalba e colaboradores (2015). Os tempos de hidrólise foram previamente definidos seguindo resultados obtidos em outro trabalho desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa (Silva, 2019). Após o período de incubação, a mistura foi resfriada em banho de gelo até temperatura ambiente (~ 25 °C), e em seguida, neutralizada com solução saturada de NaOH até o pH 6,0. Posteriormente, as amostras foram desidratadas (em estufa e em liofilizador), moídas e armazenadas a – 20 °C até o momento das análises. Na **Figura 11** está apresentado um resumo dos processamentos que foram empregados e as amostras de farinha de casca e semente de jabuticaba que foram obtidas.



**Figura 11.** Condições de processamento combinados para o desenvolvimento da farinha de jabuticaba.

### 5.2.3 Determinação do teor de compostos fenólicos por CLAE-DAD

A extração de elagitaninos, derivados do ácido elágico e ácido gálico nas farinhas de jabuticaba, processadas (desidratada em estufa, liofilizada e hidrolisadas) e não processadas

foi realizada em triplicata, de acordo com a metodologia descrita por Inada e colaboradores (2019), por meio do emprego da extração de compostos fenólicos solúveis e insolúveis. Para a extração de compostos fenólicos solúveis, 150 mg das amostras foram pesadas em tubos de plástico cônicos e adicionadas de 10 mL de solução aquosa de metanol 70% e agitadas em vórtex por 1 min. Posteriormente, os tubos foram centrifugados (4.696 g, 10 min, 20 °C) e o sobrenadante coletado e filtrado em filtro PVDF 0,22 µm (Millipore®, Brasil). Para a extração de compostos fenólicos totais, que compreende os fenólicos solúveis e insolúveis, 50 mg das amostras foram pesadas em tubos de plástico cônicos, adicionadas de 5 mL de HCl 4 M, agitadas em vórtex por 1 min e incubadas a 90 °C por 4 horas. Após a incubação, o pH foi ajustado a 2,5 com NaOH 10 M. Os tubos foram centrifugados (4.696 x g, 10 min, 20 °C), o sobrenadante coletado, transferido para um balão volumétrico de 10 mL e o volume ajustado com água Milli-Q. O *pellet* resultante da etapa anterior foi adicionado de 10 mL de solução de metanol:dimetilsulfóxido (DMSO) (50:50, v/v), agitado em vórtex por 2 min, e mantido em banho de ultrassom por 15 minutos. Após esse período, os tubos foram centrifugados (4.696 x g, 10 min, 20 °C) e o sobrenadante foi coletado. Previamente às análises cromatográficas, todos os extratos foram filtrados em filtro PVDF 0,22 µm (Millipore®, Brasil).

Os extratos foram analisados quanto ao teor e o perfil de compostos fenólicos (ácido elágico, ácido gálico, vescalagina, castalagina) por meio do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O sistema de cromatografia (Shimadzu®, Japão) incluiu duas bombas paralelas LC-20AD, injetor automático SIL-20AHT, sistema controlador CBM-20A, degaseificador DGU-20A5 e detector de conjunto de diodos (DAD) SPD-M20A. A separação cromatográfica foi realizada utilizando coluna de fase reversa (Poroshell®, 120 EC-C18, 2,7 µm, 100 mm x 3 mm, Agilent Technologies). A fase móvel consistiu em um gradiente de solução aquosa de ácido fórmico 1% (fase A) e acetonitrila (fase B). O fluxo analítico foi de 0,5 mL/min e o volume de injeção de 5 µL. Antes da injeção da amostra, a coluna foi equilibrada com 5% da fase B. Após 7 min da injeção da amostra, a concentração da fase B aumentou para 18%, para 28% de B após 17 min, 50% de B após 22 min e 90% de B aos 27 min que foram mantidos até 28 min. As condições iniciais de injeção foram restabelecidas aos 29 min e mantidas em condição isocrática (5% da fase B) até 35 min.

A identificação dos elagitatinos e ácido elágico foi realizada por DAD em 280 e 360 nm, respectivamente, por comparação com o tempo de retenção e os espectros de absorção de padrões comerciais. A quantificação foi feita por calibração externa. Os dados foram obtidos pelo software (Shimadzu Corporation®, version 1.25, 2009).

### *Análises microbiológicas*

As farinhas de jabuticaba foram analisadas microbiologicamente para a pesquisa de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, bolores e leveduras, seguindo os padrões legais vigentes para produtos desidratados de frutas (Brasil, 2019a; Brasil 2019b), de acordo com a metodologia descrita por Downes e Ito (2001). A análise microbiológica nas farinhas de jabuticaba para o estudo clínico, foi realizada por um Laboratório de Análises de Alimentos certificado. O laudo da análise microbiológica demonstrou que as amostras estavam dentro do padrão preconizado pela legislação vigente.

### **5.3 Estudo clínico para investigar o metabolismo de elagitaninos da farinha de jabuticaba em adultos**

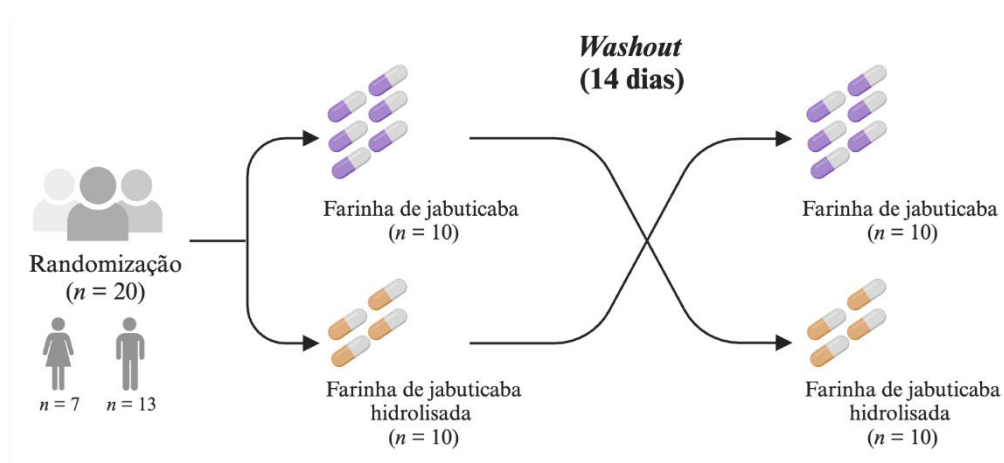
As farinhas da casca e semente de jabuticaba, não hidrolisada e hidrolisada, selecionadas para prosseguir para o estudo clínico foram encaminhadas para uma farmácia de manipulação com certificado de controle de qualidade sanitária e microbiológica, que fez o acondicionamento das farinhas em cápsulas opacas. Em estudo prévio (Leite, 2023) foi avaliada a estabilidade química dos compostos fenólicos das cápsulas contendo farinha de jabuticaba e verificada a sua estabilidade.

O recrutamento dos participantes da pesquisa ( $n = 20$ , eutróficos) foi realizado por abordagem direta, por contato telefônico ou *whatsapp* e pelas redes sociais. Os participantes preencheram um questionário impresso para a verificação do atendimento aos critérios de elegibilidade, sendo: ter idade entre 20 e 49 anos e índice de massa corporal (IMC) entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup> (eutrofia) (WHO, 1995). Os critérios de exclusão foram: analfabetos, relato de alergias alimentares, doenças crônicas, em especial as hepáticas, de doenças inflamatórias intestinais, intolerância à lactose, tabagistas, etilistas, gestantes ou lactantes, pessoas que possuíam dificuldade em ingerir cápsulas, que tenham feito uso recente e/ou que fazem uso rotineiro de medicamentos e/ou suplementos nutricionais, que tenham feito uso de antibióticos nos últimos 3 meses e que fazem uso rotineiro de probióticos.

Nos quatro dias que antecederam a coleta de urina, os participantes da pesquisa foram instruídos, verbalmente e por escrito, a fazer dieta isenta de alimentos fontes de elagitaninos, incluindo: chás (derivados da *Camellia sinensis*), frutas vermelhas do tipo *berry* (ex. amora, cereja, jabuticaba, mirtilo, morango, uva, dentre outras), romã, sementes oleaginosas (ex.

amendoim, castanhas, nozes, dentre outras) e qualquer produto derivado destes alimentos. Dois dias antes da coleta de urina, os participantes iniciaram uma restrição da ingestão de alimentos fontes de outros compostos fenólicos, em especial cacau, café, cereais integrais, cerveja, chás, frutas, hortaliças e vinho. Para maior controle dos alimentos consumidos, foram aplicados registros alimentares de 24 horas durante os dias do estudo.

Foi realizado um estudo do tipo *crossover* randomizado cego, no qual cada indivíduo participou de dois diferentes testes, que consistiram na ingestão de cápsulas (quatro ou seis), contendo 3 g de farinha de jabuticaba (FJ) e farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH) (**Figura 12**), com *washout* de duas semanas. Essa dose foi definida com base em um teste prévio realizado com dois participantes, sendo um baixo produtor de urolitinas e um alto produtor de urolitinas. A seleção desses voluntários foi baseada em estudo prévio do grupo de pesquisa (Leite, 2023). Nesse teste observou-se que a ingestão de 3 g de casca e semente de jabuticaba foi suficiente para detectar os metabólitos de urolitinas na urina de ambos os indivíduos, mesmo na do baixo produtor.

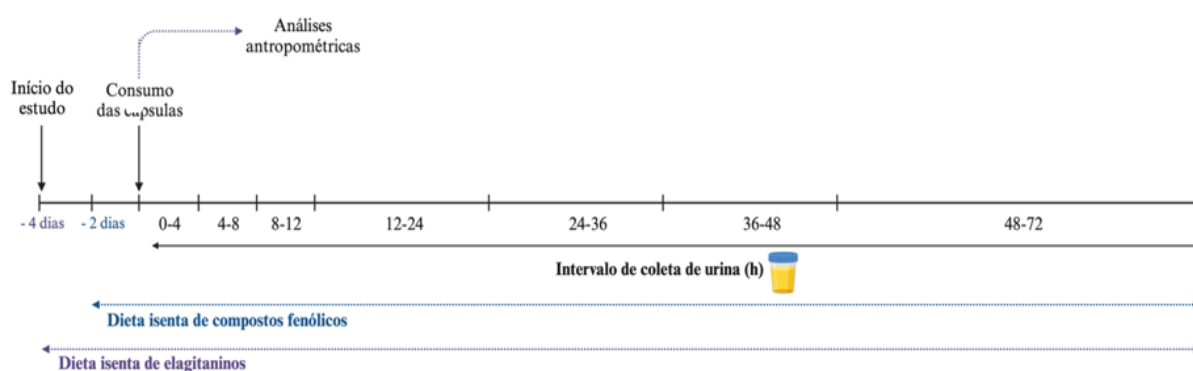


**Figura 12.** Desenho experimental do estudo clínico *crossover* randomizado cego. Criado por BioRender.com

Os voluntários foram orientados quanto à coleta adequada da urina, armazenamento e o transporte foi realizado pelo pesquisador conforme as recomendações de Delanghe e Speeckaert (2016). Após a ingestão das cápsulas, toda a urina excretada nos intervalos de 0-4 h, 4-8 h, 8-12 h, 12-24 h, 24-36 h, 36-48 h e 48-72 h foi coletada (**Figura 13**). A coleta de urina foi realizada em frascos plásticos com tampa rosqueável e capacidade de 1 L. O volume total em cada intervalo foi aferido, assim como sua densidade e as alíquotas de urina foram armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , em tubos cônicos plásticos de 15 mL com tampa rosqueável, até a realização das análises. O volume excedente de urina foi descartado no vaso sanitário. Após a

realização das análises previstas no projeto e possíveis repetições para confirmação de resultados, os tubos contendo as alíquotas de urina armazenadas foram dispostos em saco branco leitoso com o símbolo de material infectante, devidamente identificado e descartados em caçambas de infectante localizadas no Centro de Ciências da Saúde da UFRJ. No momento da entrega do material necessário para o início do estudo, foram realizadas as medidas antropométricas (**Figura 13**).

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUCFF/UFRJ sobre o número CAAE: 35307020.1.0000.5257, número do comprovante: 077732/2020.



**Figura 13.** Diagrama ilustrativo dos procedimentos realizados de coleta das urinas e dados antropométricos.

### 5.3.1 Preparo das amostras de urina e análise dos metabólitos de elagitaninos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As amostras de urina foram descongeladas, homogeneizadas em vórtex e centrifugadas ( $14.324 \times g$ , 10 min,  $10^\circ\text{C}$ ), o sobrenadante foi coletado e adicionado de etanol (2:1, v/v) para a precipitação das proteínas. As amostras foram agitadas por vórtex por 3 min, centrifugadas ( $14.324 \times g$ , 10 min,  $10^\circ\text{C}$ ) e armazenadas a  $-20^\circ\text{C}$  por 24 h. Para as análises por CLAE as amostras foram filtradas em filtro PVDF  $0,22 \mu\text{m}$  (Millipore<sup>®</sup>, Brasil). A identificação e a quantificação dos metabólitos de urolitinas foram realizadas em equipamento CLAE-DAD e coluna de fase reversa C18, de acordo com a metodologia descrita por García-Villalba e colaboradores (2016). As condições cromatográficas foram semelhantes as descritas no item 5.2.3, exceto no comprimento de onda que para essa análise foi de 305 nm. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos espectros de absorvância e

dos tempos de retenção apresentados por García-Villalba e colaboradores (2016), ao utilizarem um fator de correção para cada metabólito, a partir da curva padrão urolitina A.

#### **5.4 Antropometria e aspectos morfológicos corporais da amostra.**

Para a caracterização dos voluntários quanto ao estado nutricional e composição corporal, empregou-se as técnicas antropométricas da Sociedade Internacional para o Avanço da Cineantropometria (ISAK). Os procedimentos pré-coleta foram atendidos e o pesquisador responsável pelas aferições possuía acreditação ISAK de antropometrista nível 2.

##### **5.4.1 Variáveis antropométricas**

As variáveis antropométricas avaliadas foram: massa corporal, estatura, dobra cutânea do tríceps, dobra cutânea subescapular, dobra cutânea supraespinal, dobra cutânea da perna, diâmetro do úmero, diâmetro do fêmur, perímetro do braço contraído e perímetro da perna.

Para realização da coleta, os indivíduos foram orientados a não realizarem exercícios físico momentos antes (24 h) e apresentar-se para avaliação com vestimentas adequadas (homens: bermuda e camisa regata ou sunga; mulheres: bermuda acima do joelho e *top* de alça ou biquini) conforme sugerido pela ISAK.

Para realização da medida de massa corporal foi utilizada uma balança mecânica (colocar marca e modelo da balança) que forneceu dados com oscilações em torno de 100 g. Após medição de cada voluntário foi realizada uma nova calibração da balança.

A estatura foi aferida pela distância do vértex até parte mais inferior dos pés. Com o avaliado em posição anatômica, com os pés juntos em contato com a parede, e com o plano Frankfort devidamente orientado, foi solicitado que o avaliado realizasse uma inspiração profunda e mantê-la até o final da medida. A medida foi realizada por um estadiômetro portátil.

No nível do ponto meso-umeral, na face posterior do braço, foi aferida a dobra cutânea do tríceps, no sentido longitudinal. Para aferição da dobra cutânea subescapular (**Figura 14C**), foi posicionado o plicômetro perpendicular ao ponto de referência da dobra subescapular. Na dobra cutânea supraespinal, a referência foi a intersecção dos pontos antropométricos espinha ilíaca, crista ilíaca e linha axilar média. Essa dobra foi medida no sentido oblíquo. A dobra cutânea da perna foi aferida no sentido longitudinal, tendo a medida

no ponto de maior massa muscular da face medial da perna com avaliado posicionado com o pé direito em cima do banco antropométrico.

Os diâmetros ósseos de úmero (**Figura 14D**) e fêmur, foram aferidos a partir das distâncias dos epicôndilos medial e lateral do úmero, e côndilos medial e lateral do úmero, respectivamente. Os perímetros de braço contraído e perna, teve como referência o ponto de maior massa muscular do braço (com cotovelo flexionado a 90°) (**Figura 14B**) e da perna.



**Figura 14.** Variáveis antropométricas. Estatura (**A**), exemplo de perimetria (**B** = perímetro de braço), dobra cutânea (**C** = dobra cutânea subescapular) e diâmetro ósseo (**D** = biepicondilar do úmero).

#### 5.4.2 Equipamentos utilizados

A medida de massa corporal foi verificada através da balança mecânica Wellmy<sup>®</sup> calibrada para cada voluntário. Para aferir a dobra cutânea foi utilizado o adipômetro digital e científico da marca Avanutri<sup>®</sup>. Trena metálica (2 m), paquímetro clínico (15 cm) e segmômetro (2 m) da marca Cescorf<sup>®</sup> foram utilizados para as medidas de perímetro,



diâmetro ósseo e marcação do ponto antropométrico mesoumeral, respectivamente. A estatura foi verificada utilizando o estadiômetro portátil da marca Avanutri®.

### 5.4.3 *Composição corporal*

Para estimativa da composição corporal foi utilizado o modelo de dois componentes, no qual a massa corporal total é discriminada em massa gorda e massa livre de gordura. Para estimativa da massa gorda foi utilizado o modelo duplamente indireto de dobra cutânea através da equação de Petroski (1995). O índice de massa corporal (IMC) foi calculado através da equação:

$$IMC = \frac{\text{massa corporal (kg)}}{\text{estatura (m)}^2}$$

O percentual de gordura de homens e mulheres foi estimado através das equações para estimativa da densidade corporal em adultos apresentados por Petroski (1995). As variáveis utilizadas para isso, foram as dobras cutâneas: subescapular, tricipital, suprailíaca e panturrilha medial.

### 5.5.4 *Somatotipo*

De acordo com Filho e colaboradores (2019), baseando-se na origem embrionária dos tecidos, segundo Sheldon mudou a expressão anteriormente chamada de biotipo para somatotipo, e buscou descrever que cada indivíduo apresenta endomorfismo, mesomorfismo e ectomorfismo. A antiga técnica de Sheldon consiste em fotografar o indivíduo de frente, costas e perfil. A partir de técnicas antropométricas, foi calculado o somatotipo conforme sugerido por Carter e Heath (1990). Para o cálculo da endomorfia, foram utilizados a estatura (cm) e as medidas das dobras cutâneas (mm) do tríceps, subescapular e supraespinhal, utilizando-se a seguinte fórmula, descrita por Filho e colaboradores (2019):

$$\text{Endomorfia} = \frac{\text{somatório das dobras} \times 170,18}{\text{estatura}}$$

Para o componente de mesomorfia foi empregado as variáveis de diâmetros do úmero (cm) (DU) e do fêmur (DF), dobras cutâneas de braço (DCB) e de perna (DCP), perímetros de perna (PB) e do braço contraído (PB) e a estatura (cm), de acordo com a seguinte equação:

$$\begin{aligned} \text{Mesomorfia} = & (0,58 \times DU) + (0,601 \times DF) + 0,188 \times (PB - DCB) \\ & + 0,161 \times (PP - DCP) - (0,131 \times estatura) + 4,5 \end{aligned}$$

0,58 (DU) + 0,601 (DF) + 0,188 (PB-DCB) + 0,161 (PP-DCP) - 0,131 (Estatura) + 4,5 (Filho et al., 2019).

A estatura e a massa corporal são as únicas variáveis necessárias para determinação da ectomorfia, através do índice ponderal conforme a seguir:

$$\text{Índice Ponderal (IP): } \frac{\text{estatura}}{\sqrt[3]{\text{kg}}}$$

Se o índice ponderal for igual ou menor que 38,25 a ectomorfia é igual a 0,1. Se for menor do que 40,75 e maior que 38,25 a equação passa a ser:

$$\text{Ectomorfia} = (0,463 \times \text{IP}) - 17,63$$

Se for maior que 40,75, passa a ser:

$$\text{Ectomorfia} = (0,732 \times \text{IP}) - 28,58$$

Para classificação do somatotipo (endomorfismo, mesomorfismo e ectomorfismo), os valores encontrados para cada componente foram considerados por ordem de predominância (Rocha, 2008; Pompeu, 2020) (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Critérios para classificação do somatotipo.

<b>Classificação</b>	<b>Critérios utilizados para classificação</b>
Central	Os três componentes são iguais, não diferindo mais que meia unidade.
Endomorfo-ectomórfico	A endomorfia é dominante e a ectomorfia é maior do que a mesomorfia.
Endomorfo equilibrado	A endomorfia é dominante e a mesomorfia e a ectomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade).
Endomorfo-mesomórfico	A endomorfia é dominante e a mesomorfia é maior do que a ectomorfia
Endomesomorfo	A endomorfia e a mesomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade), e a ectomorfia é menor.
Mesomorfo-endomórfico	A mesomorfia é dominante e a endomorfia é maior do que a ectomorfia.
Mesomorfo equilibrado	A mesomorfia é dominante e a endo e a ectomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade).
Mesomorfo-ectomórfico	A mesomorfia é dominante e a ectomorfia é maior do que a endomorfia.
Mesoectomorfo	A mesomorfia e a ectomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade), e a endo é menor.
Ectomorfo-mesomórfico	A ectomorfia é dominante e a mesomorfia é maior do que a endomorfia.
Ectomorfo equilibrado	A ectomorfia é dominante; a endo e a mesomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade).
Ectomorfo-endomórfico	A ectomorfia é dominante e a endomorfia é maior do que a mesomorfia.
Endomorfo-ectomórfico	A endomorfia e a ectomorfia são iguais (ou não diferem em mais de meia unidade), e a mesomorfia é menor.

Além dessa classificação o presente estudo também calculou as coordenadas de cada voluntário frente ao somatocarta. O somatocarta é um modelo esquemático de representação dos três componentes (Filho et al., 2019; Pompeu, 2020). Para calcular as coordenadas para o

posicionamento do somatocarta, foi utilizado a seguinte equação:  $X = \text{Ectomorfia} - \text{endomorfia}$ ;  $Y = 2 \text{ mesomorfia} - \text{ectomorfia} + \text{endomorfia}$ .

## 5.5 Análises estatísticas

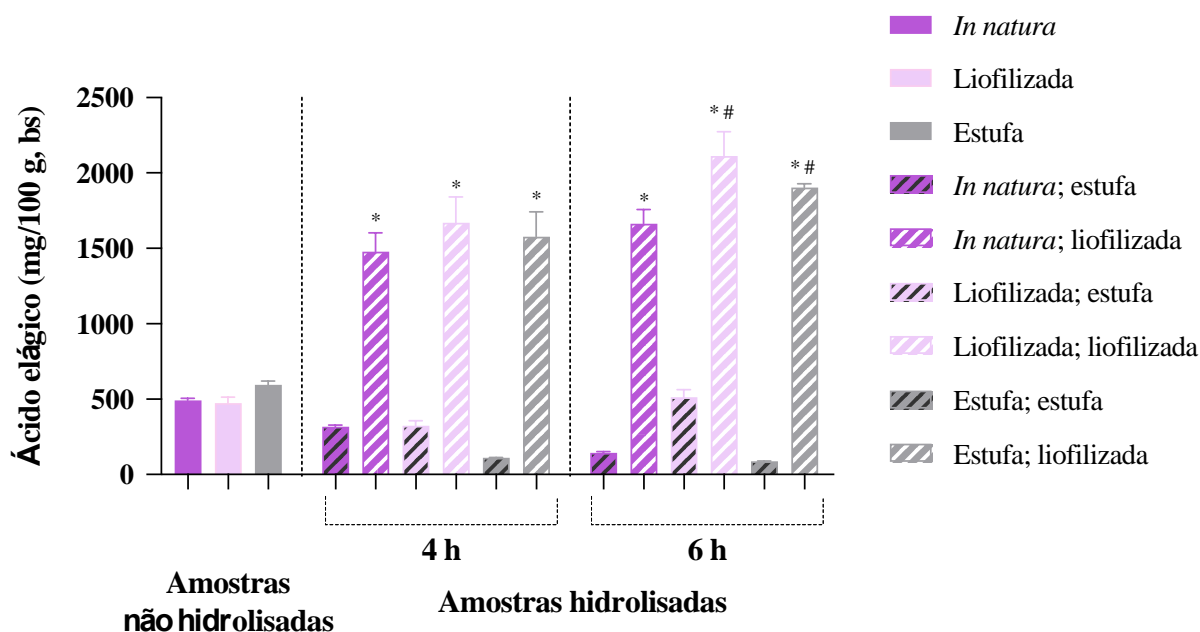
A extração dos compostos fenólicos foi realizada em triplicatas, e a identificação e quantificação dos metabólicos presentes na urina foi realizado em duplicatas. A análise estatística descritiva dos dados (média, desvio-padrão e coeficiente de variação) foi realizada no *software* Excel<sup>®</sup> (Microsoft Office, 2007). A distribuição dos dados, para a escolha dos métodos estatísticos a serem empregados, foi avaliada através dos testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. O efeito dos diferentes processamentos tecnológicos no teor de compostos fenólicos do pó da casca e semente de jabuticaba foi avaliado por análise de variância (*One-way ANOVA*), seguida de pós-teste de Tukey. A comparação das médias de excreção dos metabólitos nos diferentes intervalos de coleta de urina foi realizada pelo teste de Friedman, seguido pelo pós-teste de comparações múltiplas de Dunn's. O efeito da hidrólise ácida na excreção dos metabólitos urinários foi avaliado por meio teste de Wilcoxon. O teste de qui-quadrado foi utilizado para associar as variáveis antropométricas com o metabolismo de elagitaninos. O *software* GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 8.0 foi utilizado para realizar as análises estatísticas, e os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Condições de processamento do resíduo da casca e semente de jabuticaba

Com objetivo de definir a condição de processamento que proporcione um maior teor de ácido elágico solúvel, ou seja, potencialmente mais biodisponível, foram realizadas combinações de procedimentos de secagem e tempo de incubação de hidrólise ácida. Previamente à realização da hidrólise ácida foi estabelecido, de acordo com estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (Inada et al., 2019), as seguintes condições: (i) casca e semente de jabuticaba *in natura*; (ii) casca e semente de jabuticaba desidratada em estufa (75 °C/22 h); (iii) casca e semente de jabuticaba desidratada por liofilização (-50 °C/48 h). Sendo essas as amostras que foram comparadas com as amostras hidrolisadas.

A partir dessas três amostras iniciais, as mesmas foram submetidas à hidrólise ácida por 4 h e por 6 h. Após a hidrólise, para a obtenção da farinha de jabuticaba, as amostras foram desidratadas em estufa ou por liofilização, seguindo os mesmos parâmetros descritos acima. O teor de ácido elágico solúvel encontrado a partir de combinações dos processamentos descritos acima estão apresentados na **Figura 14**.



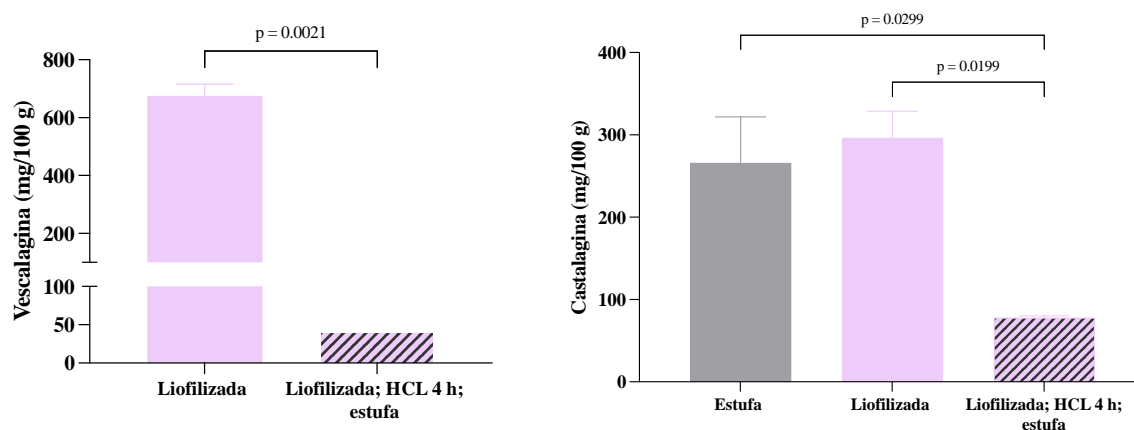
**Figura 15.** Teor de ácido elágico solúvel nas amostras de casca e semente de jabuticaba não hidrolisadas e hidrolisadas. O asterisco indica diferença significativa, considerando o método final de secagem (estufa vs. liofilizador) no mesmo tempo de hidrólise ácida. A hashtag indica diferença significativa entre as amostras hidrolisadas por 6 h e posteriormente liofilizadas. bs = base seca.

Entre as amostras não hidrolisadas (*in natura*, seca em estufa e liofilizada), não foram observadas diferenças significativas no teor de ácido elágico (em média 520,6 mg/100 g) (**Figura 15**), ou seja, a secagem previamente à hidrólise ácida não influenciou o teor de ácido elágico solúvel. Assim como no presente estudo, Inada e colaboradores (2019) também não observaram diferença significativa ao comparar o teor de ácido elágico da farinha da casca e semente da jabuticaba obtida por liofilização e por secagem em estufa (ambas condições similares as usadas no presente trabalho). No entanto, esses autores encontraram valores inferiores (em média 293 mg/100 g) aos observados no presente estudo. Essa diferença encontrada no teor de ácido elágico solúvel pode estar relacionada a condições de obtenção da casca e semente da jabuticaba, bem como anos de colheita diferentes.

Ao avaliar o efeito do tipo de desidratação (secagem em estufa vs. liofilização) após a hidrólise ácida, foi observado que as amostras que sofreram liofilização apresentaram maior

teor de ácido elágico (em média 1.733,9 mg/100 g) quando comparadas às amostras desidratadas em estufa (em média 249,9 mg/100 g) (**Figura 15**). Ao comparar o tempo de hidrólise (4 h e 6 h) observou-se que as amostras hidrolisadas por 6 h e liofilizadas após a hidrólise apresentaram maior teor de ácido elágico (1.829,7 mg/100 g) quando comparadas às amostras que foram hidrolisadas por 4 horas (1.575,0 mg/100 g). Ao passo que para as amostras que foram submetidas a secagem em estufa após a hidrólise não foi observada diferença no teor de ácido elágico quando hidrolisadas por 4 h (250,7 mg/100 g) e por 6 h (249,1 mg/100 g). Portanto, os resultados obtidos demonstram que a secagem por liofilização após a hidrólise ácida é o método que preserva o ácido elágico. Apesar do ácido elágico ser uma molécula altamente termoestável, possuindo ponto de fusão e de ebulição de 450 °C e 796 °C, respectivamente (Muthukumar et al., 2017), após hidrólise, esse composto demonstrou ser mais sensível a degradação térmica.

Dentre os elagitaninos já descritos na jabuticaba (castalagina e vescalagina), a vescalagina foi identificada apenas na amostra liofilizada (sem hidrólise) e na amostra que foi liofilizada previamente a hidrólise ácida, hidrolisada por 4 h e posteriormente desidratada em estufa (**Figura 16**). Nessas mesmas amostras também foi identificado a castalagina, sendo esse composto também identificado na amostra seca em estufa (sem hidrólise). Em comparação, os teores de vescalagina e castalagina foram significativamente superiores nas amostras sem hidrólise (tanto liofilizada quando desidratada em estufa) quando comparado à amostra hidrolisada (**Figura 16**).



**Figura 16.** Teores de vescalagina e castalagina nas amostras de casca e semente de jabuticaba não hidrolisada e hidrolisada.

Esses resultados indicam que o processo de secagem por liofilização e a secagem por estufa aumentam de modo significativo o teor de castalagina. No entanto, não foi possível

identificar a vescalagina na amostra seca em estufa e em outras amostras analisadas nesse estudo, com exceção das amostras liofilizadas, hidrolisadas por 4 h e seca em estufa. Inada e colaboradores (2019) encontraram em média 740 mg/100 g de vescalagina após a liofilização da casca e semente de jabuticaba. No presente trabalho, o teor de vescalagina para essa mesma amostra foi similar (675 mg/100 g) ao relatado por Inada e colaboradores (2019), que também verificaram um alto teor de vescalagina na farinha de jabuticaba seca em estufa (75 °C por 22 h). No entanto, no presente estudo esse composto não foi identificado. Entretanto, assim como visto por Inada e colaboradores (2019), foi identificado a presença de castalagina na amostra seca em estufa (75 °C por 22 h). Porém os valores encontrados no presente trabalho (266 mg/100 g) foram menores comparado ao descrito pelos autores (561 mg/100 g). O teor de castalagina para amostra liofilizada foi um terço do que foi relatado por Inada e colaboradores (2019).

A condição de processamento selecionada para o estudo clínico foi o uso da amostra desidratada em estufa, seguida de hidrólise ácida por 6 h e liofilizada após a hidrólise. A escolha dessas condições levou em consideração o maior teor de ácido elágico solúvel e o custo operacional do procedimento, pensando na elaboração de maior quantidade de produto. Nesse contexto, a amostra utilizada no estudo clínico nomeada de farinha de jabuticaba (FJ) refere-se a amostra que foi desidratada em estufa (75 °C por 22 h), e a amostra nomeada de farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH) refere-se àquela que foi desidratada em estufa (75 °C por 22 h), em seguida submetida a hidrólise ácida 6 h e posteriormente desidratada por liofilização.

## **6.2 Efeito da hidrólise ácida sobre o metabolismo de elagitaninos da casca e semente da jabuticaba em adultos.**

Vinte voluntários eutróficos concluíram o estudo, sendo 7 mulheres e 13 homens, com idade média de 29 anos, IMC de 23 kg/m<sup>2</sup> e percentual de gordura de 14% (**Tabela 2**). Quatro dias antes do consumo das cápsulas, e durante a coleta de urina por 72 h, os voluntários relataram verbalmente sua ingestão alimentar diária via rede social privada. Todos os voluntários foram previamente orientados quanto a restrição alimentar e incentivados a declarar quaisquer desconfortos oriundos do consumo das cápsulas.

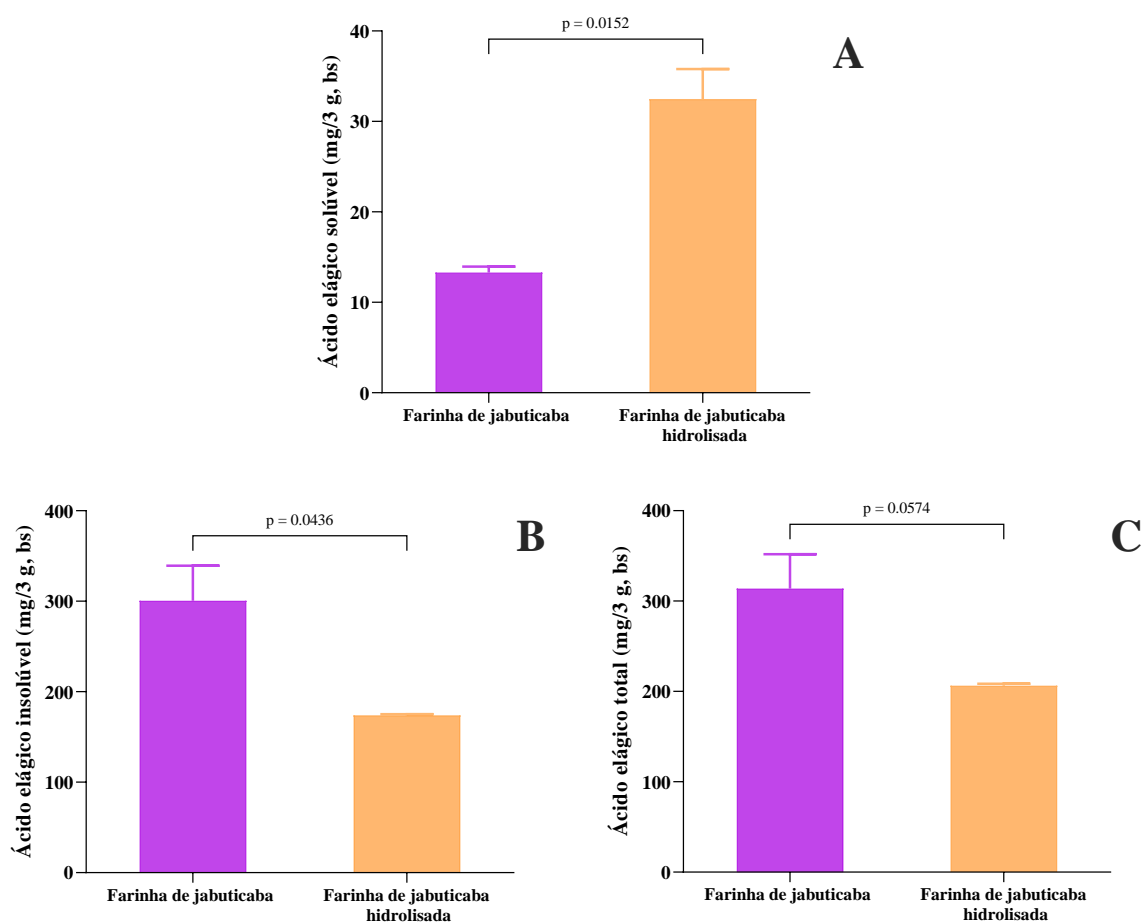
**Tabela 2.** Sexo, idade, IMC, somatório das quatro dobras cutâneas (tríceps, suprailíaca, subescapular e perna) e percentual de gordura dos voluntários que participaram do estudo.

<b>Sexo</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>∑ 4DC (mm)</b>	<b>%PG</b>
Homens ( <i>n</i> = 13)	26,8 ± 5,2	23,8 ± 1,6	35,2 ± 13,0	10,2 ± 5,4
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	33,3 ± 6,5	19,6 ± 7,5	44,8 ± 17,7	20,9 ± 1,4
Total ( <i>n</i> = 20)	29,3 ± 6,4	23,1 ± 1,9	41,0 ± 13,0	14,4 ± 6,2

IMC = índice de massa corporal; ∑4DC = somatório das quatro dobras cutâneas; PG = percentual de gordura.

Para o estudo clínico foram administradas 4 cápsulas contendo a FJ (cada cápsula contendo 0,75 g da farinha) e 6 cápsulas contendo a FJH (cada cápsula contendo 0,50 g da farinha). A diferença na quantidade de cápsulas administradas se deve ao fato das farinhas terem apresentado densidades diferentes. No entanto, ressalta-se que para ambos os testes foram administrados 3 g da farinha de jabuticaba. A dose de ácido elágico solúvel ofertada com o consumo da FJ e da FJH foi, respectivamente, 13,3 mg e 32,5 mg (**Figura 17A**). O teor total de ácido elágico total ofertado foi de 313,9 mg e 206,4 mg (**Figura 17C**), após o consumo da FJ e da FJH respectivamente.

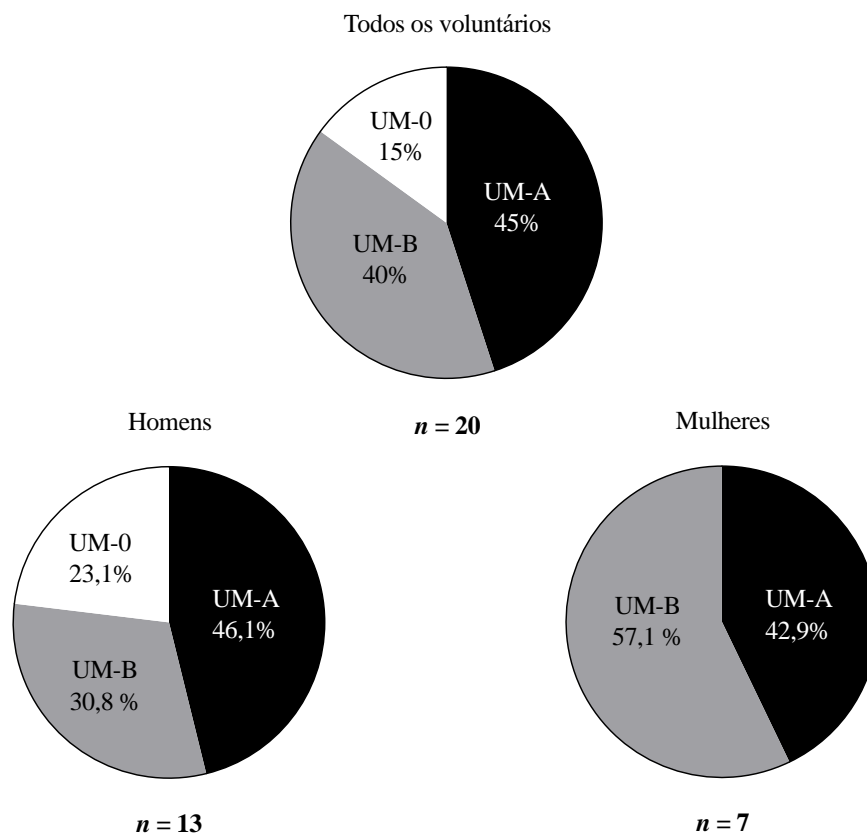




**Figura 17.** Teor de ácido elágico solúvel (A), insolúvel (B) e totais (C) nas farinhas de jaboticaba utilizadas no estudo clínico. bs = base seca. Teste *t* não pareado.

Após o consumo das cápsulas, os voluntários foram categorizados em metabotipos A, B ou 0, seguindo a classificação definida por Tomás-Barberán e colaboradores (2014). Essa estratificação do metabotipo foi realizada após o consumo da FJH, visto que alguns voluntários produziram maior variedade de metabólitos após a ingestão desta farinha, conforme será detalhado adiante. No presente trabalho foi verificado uma maior frequência de indivíduos metabotipo A (45%), seguido por metabotipo B (40%) e metabotipo 0 (15%) (**Figura 18**). Ao avaliar a distribuição de metabotipo por sexo, foi observado uma diferença no perfil, no qual, para os homens 46,1% eram metabotipo A, 30,8% metabotipo B e 23,1% metabotipo 0. Já nas mulheres, 57,1% foram classificadas como metabotipo B e 42,9% como metabotipo A, não tendo sido observado mulher classificada como metabotipo 0. Em um estudo recente envolvendo a avaliação do metabotipo de urolitinas em mulheres gestantes ( $n = 32$ ) acompanhadas ao longo de um ano, também foi relatada a ausência de metabotipo 0

nessa população (Cortés-Martin et al., 2019). Em outro trabalho, García-Mantrana e colaboradores (2019) ao investigar se os metabotipos de urolitinas estava associado a modulação da microbiota intestinal, verificaram na amostra composta por 27 indivíduos saudáveis a ausência de indivíduos metabotipo 0. Esse comportamento dos dados (ausência de UM-0) ainda não tinha sido observado em estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa (Leite, 2023; Inada et al., 2019) e em outros trabalhos (González-Sarrías et al., 2015; González-Sarrías et al., 2016; Tomás-Barberán et al., 2014; Selma et al., 2018).



**Figura 18.** Distribuição dos metabotipos de urolitinas nos voluntários que participaram do estudo.

Considerando dados da literatura com indivíduos eutróficos, assim como os voluntários do presente estudo, observa-se um perfil de distribuição diferente. Até o presente momento apenas dois estudos relataram o metabotipo de urolitinas após o consumo de jabuticaba, no qual um deles reportaram 53% de indivíduos metabotipo A, 21% de metabotipo B e 26% de metabotipo 0 (Inada et al., 2019). O percentual de distribuição que mais se distancia dos dados do presente trabalho está relacionado a distribuição de voluntários classificados como metabotipo B e 0. Cabe ressaltar, que Inada e colaboradores (2019) verificou uma alta prevalência de diarreia após o alto consumo de FJ, acarretando também

numa diferença na distribuição dos voluntários nos metabotipos. Em comparação, indivíduos com a ocorrência de diarreia foram mais prevalentes nos metabotipos B e 0, em comparação aos indivíduos sem diarreia. Contrariando esses dados e os do presente trabalho, Leite (2023) ao avaliar o metabotipo de indivíduos eutróficos após o consumo crônico utilizando a jabuticaba como fonte de elagitaninos, verificou uma maior prevalência de indivíduos metabotipo B (67% a 75%), seguido de indivíduos metabotipo A (12,5% a 16,7%) e metabotipo 0 (8,3% a 20,8%). Ressalta-se que esses dois estudos citados e o presente trabalho tiveram o número de voluntários similares (cerca de 20).

Acerca da investigação do metabotipo de urolitinas através do consumo de outras matrizes alimentares, Selma e colaboradores (2018) verificaram que após o consumo de 30 g de nozes com casca por voluntários eutróficos ( $n = 10$ ), 70% foram classificados como metabotipo A, 20% metabotipo B e 10% metabotipo 0. Ainda em indivíduos eutróficos, González-Sarrías e colaboradores (2015) observaram que 80% dos voluntários eram metabotipo A, 10% metabotipo B e 10% metabotipo 0, após o consumo de extrato de romã. Apenas o estudo de Zhang e colaboradores (2020) apresenta uma distribuição entre os metabotipos A, B e 0 muito similar a observada no presente trabalho. Tais autores relataram que após consumo de uma xícara de framboesa, os voluntários ( $n = 10$ ) apresentaram uma distribuição de 40% como metabotipo B, 50% metabotipo A e 10% metabotipo 0.

Após o consumo da FJ e da FJH, seis metabólitos foram identificados na urina: urolitina A 3/8-glucuronídeo, isourolitina A 3/9-glucuronídeo, urolitina B, urolitina B-glucuronídeo, urolitina A e isourolitina A (**Tabela 3**). Esses mesmos metabólitos foram identificados nas amostras de urina de voluntários no estudo de Leite (2023), que utilizou quantidade similar de elagitaninos à do presente estudo. Ademais, a farinha de jabuticaba ofertada pela autora foi obtida da mesma maneira que a FJ do presente trabalho. Em contrapartida, Inada e colaboradores (2019) identificaram e quantificaram 13 metabólitos de elagitaninos (urolitina A 3-glucuronídeo, urolitina A-sulfatada, urolitina A, isourolitina A 3-glucuronídeo, isourolitina A 9-glucuronídeo, isourolitina A, urolitina B-glucuronídeo, urolitina B-sulfatada, urolitina B, urolitina C, urolitina M6, urolitina M7 e ácido elágico) após o consumo de uma sobremesa contendo 20 g de pó de casca e semente de jabuticaba. De acordo com os autores, essa quantidade inédita de metabólitos foi atribuída à elevada quantidade de elagitaninos solúveis (148 mg de vescalagina e 179 mg de castalagina) e ácido elágico solúvel (62 mg) consumida pelos voluntários. Essa quantidade elevada resultou em

efeitos adversos como diarreia, relatado em 63% dos voluntários, devido ao efeito laxativo dos elagitaninos.

Considerando a excreção total das urolitinas, observou-se que a urolitina A 3/8-glucuronídeo foi o metabólito principal, representando, respectivamente, 50% e 56% do total de urolitinas excretado ao longo das 72 h de estudo, após o consumo da FJ e da FJH. Ademais, esse composto também foi o metabólito mais frequente, tendo sido identificado em 14 voluntários (70%) após o consumo da FJ e em 13 voluntários (65%) após o consumo da FJH (**Tabela 3**). A isourolitina A 3/9-glucuronídeo foi o segundo metabólito identificado em maior quantidade, representando, respectivamente, 21% e 20% do total de urolitinas excretado ao longo das 72 h de estudo, após o consumo da FJ e da FJH. Assim como já relatado anteriormente em outros estudos, as formas mais abundantes de urolitinas encontradas nesta dissertação foram as formas conjugadas, principalmente as glucoronizadas (Leite, 2023; Inada et al., 2019; González-Sarrías et al., 2015; González-Sarrías et al., 2016).

Apesar de ter sido identificado metabólito já no primeiro intervalo de coleta de urina (0-4 h) (**Tabela 3**) ressalta-se que foi apenas um metabólito (urolitina B-glucuronídeo), em apenas um voluntário, e somente após o consumo da FJH. A urolitina B-glucuronídeo e a isourolitina A 3/9-glucuronídeo foram os únicos metabólitos identificados no segundo intervalo de coleta de urina (4-8 h), em apenas dois voluntários após o consumo da FJH. Somente a partir do intervalo de 8-12 h após o consumo da FJ, que os metabólitos foram identificados nas amostras de urina.

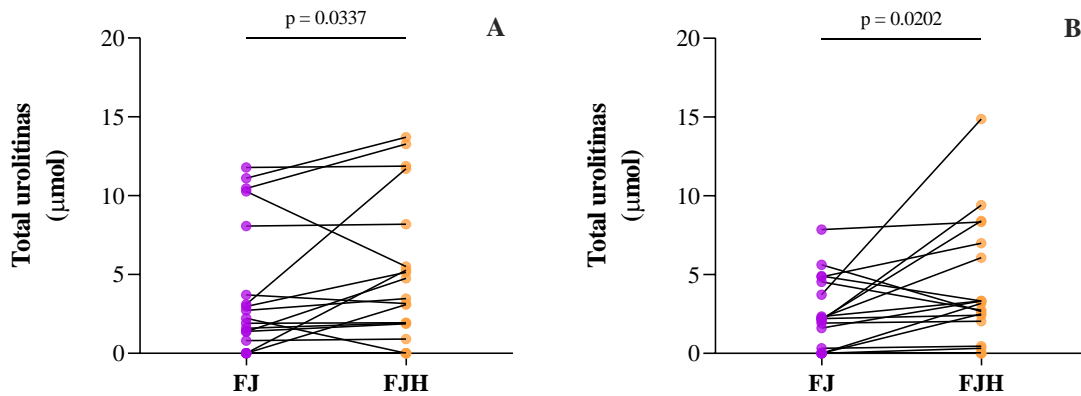
A concentração total urinária de urolitinas após o consumo da FJ foi diferente apenas no intervalo de coleta de urina de 8-12 h (0,11  $\mu\text{mol}$ ) em comparação ao intervalo de 24-36 h (3,67  $\mu\text{mol}$ ) (**Tabela 3**). Após o consumo da FJH, a diferença na concentração total de urolitinas foi observada entre o intervalo de coleta de 8-12 h (0,29  $\mu\text{mol}$ ), 24-36 h (4,79  $\mu\text{mol}$ ) e 36-48 h (4,02  $\mu\text{mol}$ ). No entanto, não foi observada diferença significativa entre os intervalos de coleta ao avaliar cada metabólito separadamente.

**Tabela 3.** Excreção urinária de metabólitos ( $\mu\text{mol}$ ) em diferentes intervalos de coleta após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH)<sup>1</sup>.

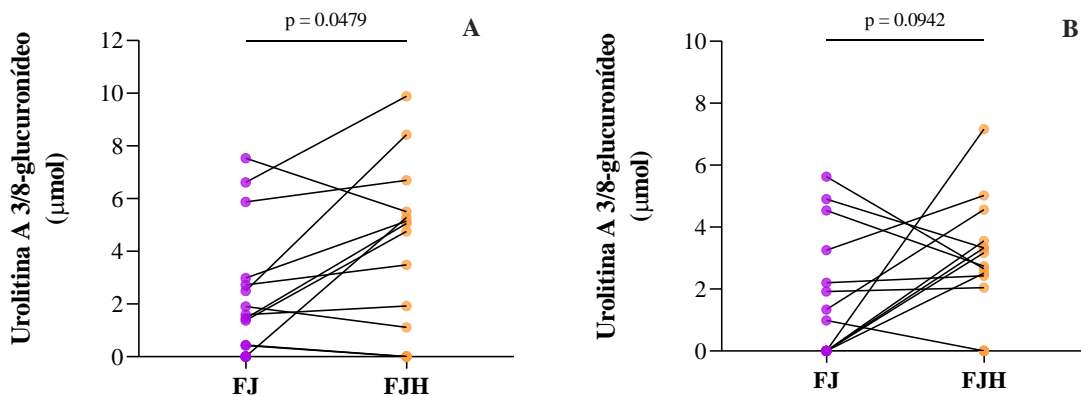
Metabólito	Teste	Intervalo de coleta						
		0-4 h	4-8 h	8-12 h	12-24 h	24-36 h	36-48 h	48-72 h
Urolitina A 3/8-glucuronídeo	FJ	LD	LD	$0,08 \pm 0,26^a$ $n = 2$	$1,01 \pm 1,90^a$ $n = 7$	$1,77 \pm 2,29^a$ $n = 12$	$1,24 \pm 1,84^a$ $n = 8$	$1,92 \pm 2,54^a$ $n = 9$
	FJH	LD	LD	$0,20 \pm 0,51^a$ $n = 3$	$1,55 \pm 2,93^a$ $n = 8$	$2,86 \pm 3,16^a$ $n = 11$	$2,13 \pm 2,03^a$ $n = 12$	$1,89 \pm 2,74^a$ $n = 8$
Isourolitina A 3/9-glucuronídeo	FJ	LD	LD	$0,02 \pm 0,08^a$ $n = 1$	$0,40 \pm 0,79^a$ $n = 5$	$0,59 \pm 1,15^a$ $n = 6$	$0,47 \pm 0,94^a$ $n = 4$	$1,08 \pm 2,10^a$ $n = 5$
	FJH	LD	$0,18 \pm 0,70^a$ $n = 2$	$0,05 \pm 0,16$ $n = 2$	$0,64 \pm 0,97^a$ $n = 7$	$0,92 \pm 1,41^a$ $n = 9$	$0,58 \pm 1,17^a$ $n = 4$	$0,65 \pm 1,67^a$ $n = 3$
Urolitina B-glucuronídeo	FJ	LD	LD	$0,01 \pm 0,05^a$ $n = 1$	$0,16 \pm 0,45^a$ $n = 3$	$0,44 \pm 0,89^a$ $n = 5$	$0,29 \pm 0,64^a$ $n = 4$	$0,59 \pm 1,72^a$ $n = 2$
	FJH	$0,02 \pm 0,09^a$ $n = 1$	$0,05 \pm 0,15^a$ $n = 2$	$0,01 \pm 0,05^a$ $n = 1$	$0,16 \pm 0,43^a$ $n = 3$	$0,32 \pm 0,57^a$ $n = 6$	$0,37 \pm 0,86^a$ $n = 4$	$0,30 \pm 0,87^a$ $n = 3$
Urolitina A	FJ	LD	LD	LD	$0,31 \pm 1,07^a$ $n = 2$	$0,54 \pm 1,81^a$ $n = 2$	$0,12 \pm 0,52^a$ $n = 1$	$0,55 \pm 2,39^a$ $n = 1$
	FJH	LD	LD	$0,03 \pm 0,13^a$ $n = 1$	$0,09 \pm 0,39^a$ $n = 1$	$0,36 \pm 1,15^a$ $n = 2$	$0,61 \pm 2,27^a$ $n = 2$	$0,18 \pm 0,80^a$ $n = 1$
Isourolitina A	FJ	LD	LD	LD	LD	$0,24 \pm 1,07^a$ $n = 1$	$0,14 \pm 0,63^a$ $n = 1$	LD
	FJH	LD	LD	LD	$0,14 \pm 0,62^a$ $n = 1$	$0,23 \pm 1,00^a$ $n = 1$	$0,08 \pm 0,33^a$ $n = 1$	LD
Urolitina B	FJ	LD	LD	LD	LD	LD	LD	LD
	FJH	LD	$0,01 \pm 0,05^a$ $n = 1$	LD	LD	$0,10 \pm 0,44^a$ $n = 1$	$0,26 \pm 0,75^a$ $n = 3$	$0,33 \pm 1,04^a$ $n = 2$
Total de urolitinas	FJ	LD	LD	$0,11 \pm 0,32^b$ $n = 2$	$1,87 \pm 2,84^{ab}$ $n = 9$	$3,67 \pm 4,04^a$ $n = 15$	$2,32 \pm 2,22^{ab}$ $n = 14$	$4,11 \pm 5,6^{ab}$ $n = 12$
	FJH	$0,02 \pm 0,09^c$ $n = 1$	$0,24 \pm 0,88^{bc}$ $n = 2$	$0,29 \pm 0,57^{bc}$ $n = 5$	$2,57 \pm 3,34^{abc}$ $n = 12$	$4,79 \pm 4,48^a$ $n = 16$	$4,02 \pm 3,79^a$ $n = 17$	$3,36 \pm 3,82^{ab}$ $n = 13$

<sup>1</sup>Resultados expressos como média  $\pm$  DP. Diferentes letras sobrescritas no mesmo teste são diferentes significativamente (teste de Friedman seguido de teste de comparações múltiplas de Dunn's,  $p < 0,05$ ). LD = abaixo do limite de detecção.

A concentração urinária total de urolitinas foi diferente entre os testes apenas nos intervalos de coleta de 24-36 h e 36-48 h, sendo, respectivamente, 31% maior e 73% maior após o consumo da FJH quando comparada ao consumo da FJ (**Figura 19**). Ao avaliar os metabólitos individuais, foi observada maior excreção urinária apenas para a urolitina A 3/8-glucuronídeo, no período de 24-36 h (**Figura 20A**) após o consumo da FJH, tendo sido observada tendência no intervalo de coleta de 36-48 h (**Figura 20B**).

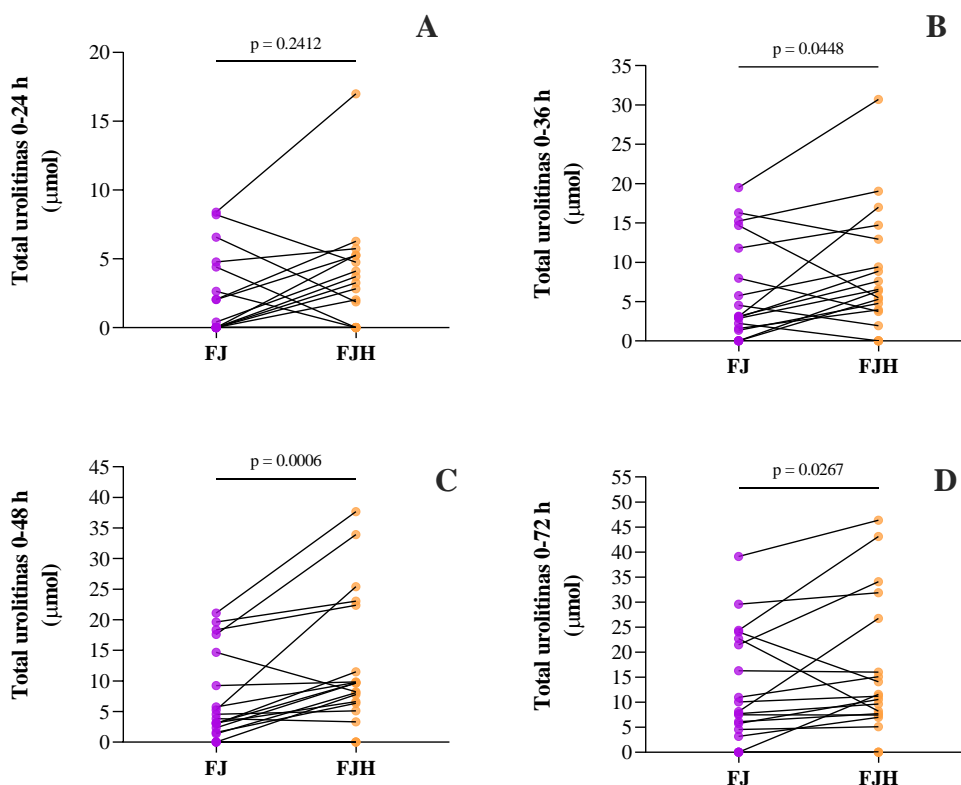


**Figura 19.** Excreção urinária total de urolitinas ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 24-36 h (A) e 36-48 h (B) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH). Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$  (teste de Wilcoxon).



**Figura 20.** Excreção urinária de urolitina A 3/8-glucuronídeo ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 24-36 h (A) e 36-48 h (B) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH). Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$  (teste de Wilcoxon).

González-Sarrías e colaboradores (2015) investigaram se a biodisponibilidade do ácido elágico poderia ser afetada pela quantidade de ácido elágico livre consumido. Para isso, foi conduzido um estudo *crossover* no qual 20 voluntários (10 homens e 10 mulheres) consumiram extrato de romã com alto teor de ácido elágico (130 mg de punicalagina + 524 mg de ácido elágico) e alto teor de elagitaninos (279 mg de punicalagina + 25 mg de ácido elágico). Os resultados apontaram que a maior oferta de ácido elágico livre (21 vezes) não aumentou a sua biodisponibilidade, mas promoveu uma maior produção de urolitinas. Para os indivíduos metabotipo A ( $n = 16$ ), a excreção de total de urolitinas na urina (0-72 h) foi 2 vezes superior, e 3 vezes superior para indivíduos metabotipo B, após o consumo do extrato com maior teor de ácido elágico em comparação ao extrato com menor teor de ácido elágico. Em nosso estudo, a maior oferta de ácido elágico livre (2,5 vezes maior em FJH) aumentou em 1,33 vezes a excreção total de urolitinas no intervalo de 0-72 h após o consumo (**Figura 21**). A diferença da dose de ácido elágico livre administrada no presente estudo é consideravelmente inferior ao de González-Sarrías e colaboradores (2015), e ainda assim aumentou significativamente a produção de urolitinas. Em contrapartida, Truchado e colaboradores (2012) ofertou a mesma quantidade de morangos, porém contendo quantidades diferentes de ácido elágico livre (2,5 vezes) e não observou diferenças significativas na excreção total de urolitinas após 92 h, em indivíduos saudáveis.



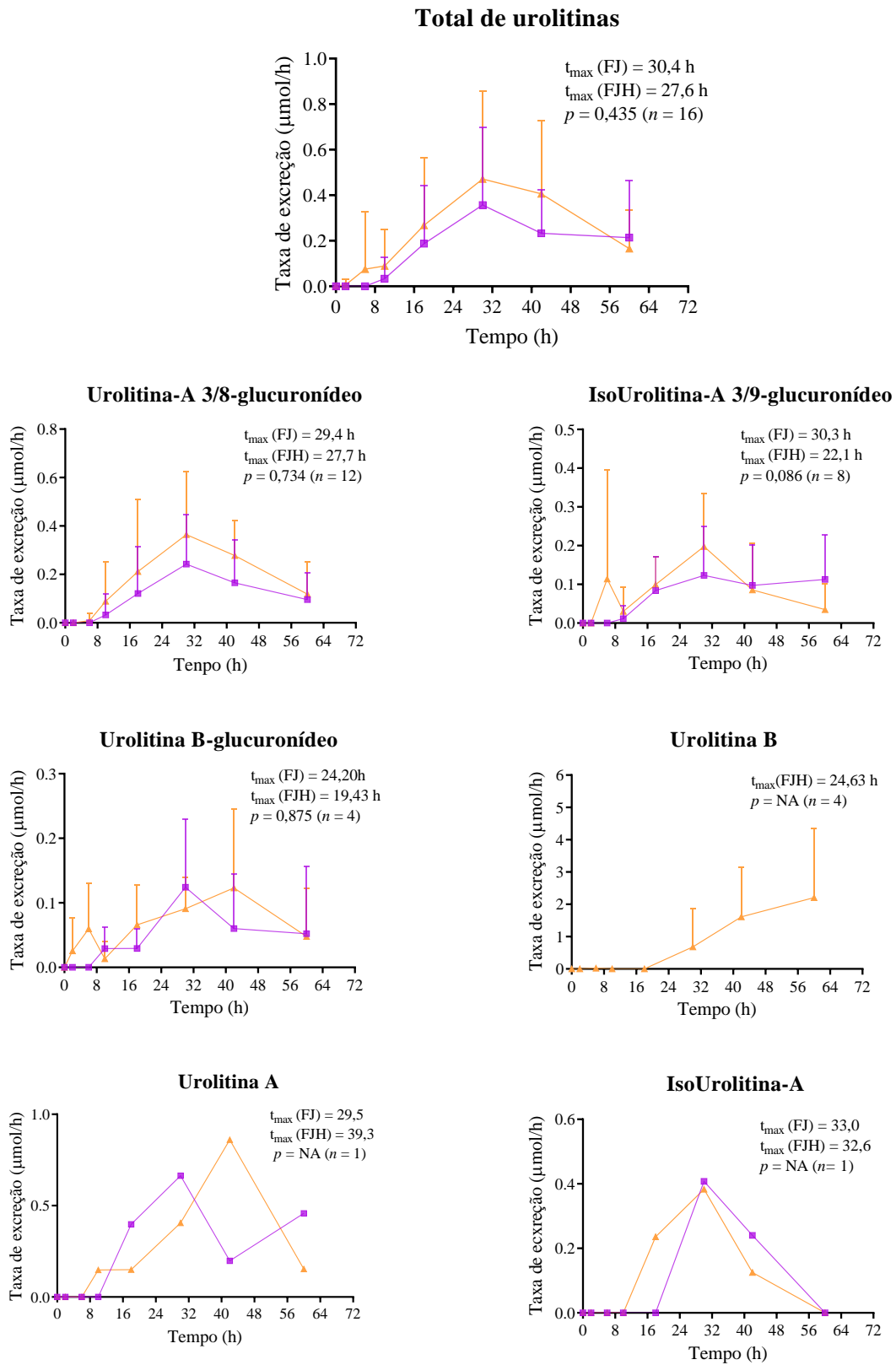
**Figura 21.** Excreção urinária total de urolitinas ( $\mu\text{mol}$ ) nos intervalos de coleta de 0-24 h (A), 0-36 h (B), 0-48 h (C) e 0-72 h (D) após o consumo da farinha de jabuticaba (FJ) e da farinha de jabuticaba hidrolisada (FJH). Diferença entre os testes foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$  (teste de Wilcoxon).

Entre estudos clínicos que investigaram o metabolismo de elagitaninos em amostras de urina, a presença de metabólitos é comumente encontrada 8 h após o consumo de alimentos fonte desses compostos (González-Sarrías et al., 2017; Truchado et al., 2012; Ludwig et al., 2015; Cerdá et al., 2005). Inada e colaboradores (2019) investigaram o metabolismo de elagitaninos em brasileiros eutróficos e obesos, utilizando como fonte de elagitaninos 20 g de casca e semente da jabuticaba (mesma fonte do presente estudo, porém uma dose 6,6 vezes maior). Os autores verificaram a presença de urolitinas na urina dos voluntários 8 horas após o consumo da jabuticaba. Entretanto, baixas concentrações de ácido elágico foram relatadas nos intervalos de 0-4 h ( $0,06 \mu\text{mol}$ ) e de 4-8 h ( $0,01 \mu\text{mol}$ ). De acordo com os nossos resultados, o consumo de farinha de jabuticaba acarretou na excreção urinária de urolitinas a partir de 8 h, assim como o estudo anteriormente citado. Entretanto, o consumo da farinha de jabuticaba hidrolisada resultou no aparecimento de urolitinas na urina já nos primeiros intervalos de coleta (0-4 h; 4-8) em alguns voluntários.



Recentemente, Leite (2023) ao avaliar o efeito do consumo crônico da farinha de jabuticaba no metabotipo de indivíduos eutróficos e obesos, relatou uma média de excreção total de urolitinas de 2,37  $\mu\text{mol}$  no intervalo de coleta de 24-36 h. A amostra utilizada pela autora é similar a farinha de jabuticaba não hidrolisada utilizada no presente trabalho. Porém, maior excreção urinária, em torno de 29% (3,56  $\mu\text{mol}$ ) foi observada no presente estudo. Essa diferença pode ser justificada pelo critério de inclusão na seleção da amostra, nossos resultados são de indivíduos exclusivamente eutróficos. Além disso, uma maior prevalência de indivíduos metabotipo A em comparação aos resultados de Leite (2023), e esse metabotipo é capaz de produzir apenas a urolitina A e seus isômeros, que são majoritários em todos os estudos que investigaram a presença de urolitinas na urina.

Não foi observada diferença significativa no tempo de excreção máxima ( $t_{\text{máx}}$ ) do total de urolitinas, assim como dos metabólitos individuais após o consumo da FJ e da FJH (**Figura 22**). Apenas para a isourolitina A 3/9-glucoronídeo foi observada uma tendência de diferença no  $t_{\text{máx}}$ , com uma diferença de 8 h aproximadamente do primeiro pico de excreção entre FJH e FJ. Em todos os metabólitos identificados o  $t_{\text{máx}}$  foi inferior após o consumo da FJH em comparação a FJ, exceto para a urolitina A. Nossos resultados de  $t_{\text{máx}}$  (urinário) de urolitina A glucoronídeo e urolitina A formam semelhantes à de Truchado et al. (2012), no qual reportaram para urolitina A glucoronídeo, que o consumo de morangos frescos e purê de morango (contendo a mesma quantidade de morango, porém 2,5 vezes de ácido elágico livre) acarretou na  $t_{\text{máx}}$  de 28 h e 31,8 h, respectivamente. Para o metabólito urolitina A, a  $t_{\text{máx}}$  foi de 29,6 h e 45,5 h, para os morangos frescos e purê de morango, respectivamente. No entanto, nossos resultados são diferentes para os metabólitos urolitina B glucoronídeo e urolitina B. Enquanto Truchado e colaboradores (2012) observaram que a  $t_{\text{máx}}$  ficou entre 52 h e 80 h para urolitina B glucoronídeo, e 52 h e 60 h para urolitina B, em nossos resultados observamos que a  $t_{\text{máx}}$  para esses mesmos metabólitos foi de 19 h e 24,6 h.



**Figura 22.** Taxa de excreção urinária e tempo máximo de excreção ( $t_{max}$ ) de urolitinas em diferentes tempos após o consumo da FJ (■) e da FJH (▲).

A ausência de diferença significativa no  $t_{m\acute{a}x}$  pode ser explicada tendo como base um estudo anterior acerca da biodisponibilidade do ácido elágico provenientes do consumo de extrato de romã (González-Sarrías et al., 2015), no qual não foi observado diferença significativa no  $t_{m\acute{a}x}$  do ácido elágico plasmático (1,97 h vs 1,42 h) após o consumo de extratos de romã com proporções diferentes de punicalagina e ácido elágico. Apesar do  $t_{m\acute{a}x}$  do ácido elágico plasmático ser relativamente rápido, o  $t_{m\acute{a}x}$  das urolitinas plasmáticas ocorrem próximo de 24 h após o consumo de framboesas vermelhas (Ludwig et al., 2015).

Comparando nossos resultados com o estudo de Leite (2023), no total de urolitinas excretado na urina pelos voluntários ao consumir a farinha da casca e semente de jabuticaba entre 24-36 h, valores próximos foram encontrados nas urolitinas em sua forma conjugada (urolitina A 3/8-glucuronídeo: 1,76  $\mu\text{mol}$  vs 1,3  $\mu\text{mol}$ ; urolitina B-glucuronídeo: 0,79  $\mu\text{mol}$  vs 0,61  $\mu\text{mol}$ , respectivamente) e não conjugada apenas a urolitina A (0,55  $\mu\text{mol}$  vs 0,49  $\mu\text{mol}$ ). Porém, a isourolitina A em sua forma não conjugada, o valor foi diferente (0,24  $\mu\text{mol}$  vs 0,015  $\mu\text{mol}$ ). Inada e colaboradores (2019) utilizaram a farinha de jabuticaba em doses elevadas, 6,6 vezes superior comparada ao presente estudo, e observaram valores superiores de urolitina A 3/8-glucuronídeo e isourolitina A 3/9-glucuronídeo (Uro-A 3/8-glur: 3,74 vs 1,37 FJg/ $\mu\text{mol}$ ; IsoUro-A 3/9-glur: 1,18 vs 0,49 FJg/ $\mu\text{mol}$ ), semelhantes de urolitina B glucuronídeo (Uro-B glur: 0,3 vs 0,3 FJg/ $\mu\text{mol}$ ) e inferiores de urolitina A e isourolitina A (Uro-A: 0,20 vs 0,32 FJg/ $\mu\text{mol}$ ; IsoUro-A: 0,09 vs 0,12 FJg/ $\mu\text{mol}$ ) comparadas ao presente estudo no total urolitinas excretadas no intervalo de 0-48 h. Em nosso estudo, o consumo de FJ pelos voluntários não acarretou a produção de urolitina B, enquanto no estudo de Inada e colaboradores (2019), esse composto foi observado em apenas 2 dos 35 voluntários. No entanto, considerando o consumo da FJH tanto valores superiores foram encontrados (Inada et al. 2019: 0,01 FJg/ $\mu\text{mol}$  vs 0,23 FJHg/ $\mu\text{mol}$ ) quanto a prevalência de voluntários produtores de Uro B (Inada et al., 2019: 5,7% vs 15%).

### **6.3 Composição corporal, forma corporal e metabolismo de elagitaninos**

Estudos anteriores demonstraram uma relação entre o metabolismo de elagitaninos e variáveis como estado nutricional e composição corporal (Cortés-Martín et al., 2019; Inada et al., 2019; Leite, 2023, Selma et al., 2018). Além disso, foi relatado que indivíduos classificados como metabotipo B apresentam um risco aumentado de doenças cardiometabólicas (Selma et., 2018, González-Sarrías et al., 2016). Ademais, já foi relatado

que a classificação dos indivíduos em metabotipos consegue prever algumas variáveis antropométricas (perímetro de cintura e relação cintura quadril) em mulheres pós-parto (Cortés-Martin et al., 2019). Diante disso, o presente estudo também buscou investigar a composição corporal e forma corporal em função do metabolismo dos elagitaninos em indivíduos eutróficos. Conforme já mencionado anteriormente, a classificação dos voluntários em metabotipos foi realizada tendo como base os dados de excreção urinária após o consumo da FJH. A classificação dos voluntários em somatotipos foi realizado através das técnicas de Carter & Heath e o percentual de gordura, estimado pela equação de Petroski (1995), conforme apresentado no item 5.4.

Entre os indivíduos eutróficos, não houve diferença significativa nos valores médios de IMC dos indivíduos agrupados por metabotipo (**Tabela 4**). O mesmo comportamento dos dados se mantém quando comparamos os indivíduos do mesmo sexo. Cabe ressaltar que nesse estudo, um dos critérios de inclusão era ter o IMC entre 18,5 e 24,9 (eutrofismo), portanto a interpretação desse resultado se limita para essa classificação do IMC.

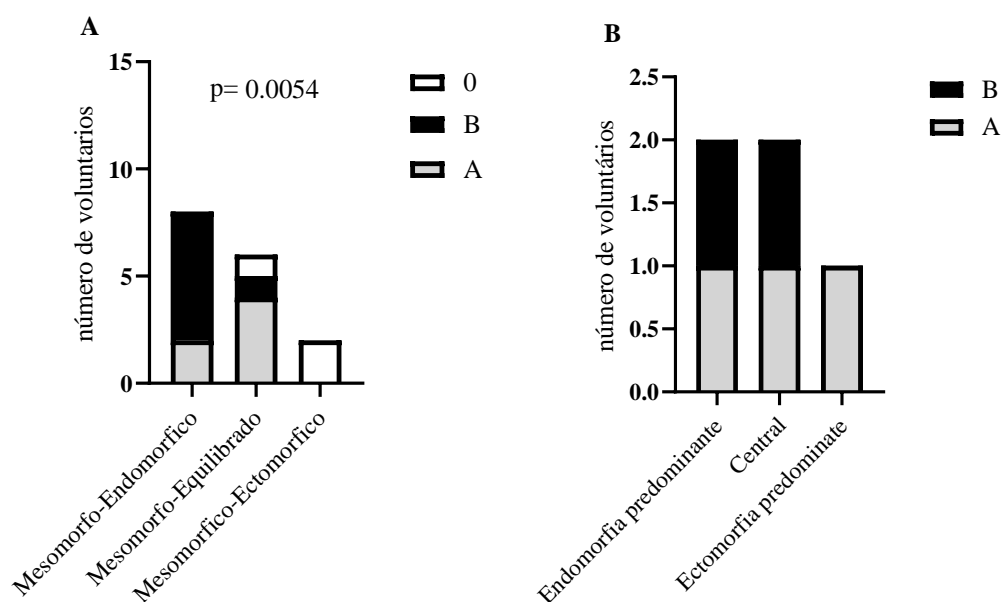
Ao analisarmos os valores médios do percentual de gordura de cada metabotipo (**Tabela 4**), os indivíduos classificados como metabotipo B apresentaram maior adiposidade (18,6%) comparado aos indivíduos classificados como metabotipo A (12,9%) e 0 (5,6%). No entanto, ao observar os dados em função do sexo, foi verificado que apenas os homens tiveram diferença no percentual de gordura entre os indivíduos metabotipo A (11,08%) e B (14,9%) em comparação ao metabotipo 0 (5,6%). Em relação ao somatório das quatro dobras cutâneas o comportamento dos dados é semelhante ao observado para o percentual de gordura.

**Tabela 4.** Comparação entre os voluntários após agrupamento por metabotipo.

	<b>Metabotipo A</b>	<b>Metabotipo B</b>	<b>Metabotipo 0</b>
<b>Índice de Massa Corporal (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	24,4 ± 1,1 <sup>a</sup> <i>n</i> = 6	23,3 ± 2,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	23,8 ± 2,2 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	20,4 ± 2,6 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3	22,7 ± 1,4 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	23,4 ± 2,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 9	22,9 ± 1,7 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	23,8 ± 2,2 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3
<b>∑4 Dobras cutâneas</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	33,8 ± 5,6 <sup>a</sup> <i>n</i> = 6	43,5 ± 7,5 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	19,7 ± 12,2 <sup>b</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	49,7 ± 3,4 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3	59,7 ± 7,1 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	40,6 ± 10,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 9	47,8 ± 7,8 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	19,7 ± 12,2 <sup>b</sup> <i>n</i> = 3
<b>% Gordura corporal</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	11,08 ± 2,9 <sup>a</sup> <i>n</i> = 6	14,9 ± 4,19 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	5,6 ± 3,4 <sup>b</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	18,3 ± 2,1 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3	21,1 ± 1,41 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	12,9 ± 4,2 <sup>b</sup> <i>n</i> = 9	18,6 ± 4,16 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	5,6 ± 3,4 <sup>c</sup> <i>n</i> = 3
<b>Grau de endormorfia</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	2,6 ± 0,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 6	3,3 ± 0,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	1,36 ± 1,10 <sup>b</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	3,3 ± 0,01 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3	4,3 ± 0,7 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	2,8 ± 0,42 <sup>b</sup> <i>n</i> = 9	3,7 ± 0,7 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	1,4 ± 1,1 <sup>c</sup> <i>n</i> = 3
<b>Grau de mesomorfia</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	5,3 ± 0,9 <sup>a</sup> <i>n</i> = 6	5,02 ± 1,6 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	4,3 ± 0,4 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	2,2 ± 0,91 <sup>b</sup> <i>n</i> = 3	4,2 ± 0,5 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	4,6 ± 1,7 <sup>a</sup> <i>n</i> = 9	4,33 ± 1,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	4,3 ± 0,5 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3
<b>Grau de ectomorfia</b>			
Homens ( <i>n</i> = 13)	2,2 ± 0,5 <sup>b</sup> <i>n</i> = 6	2,3 ± 1,2 <sup>b</sup> <i>n</i> = 4	3,1 ± 1,6 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3
Mulheres ( <i>n</i> = 7)	2,6 ± 0,3 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3	1,8 ± 0,7 <sup>a</sup> <i>n</i> = 4	NA
Todos os voluntários ( <i>n</i> = 20)	2,5 ± 0,8 <sup>a</sup> <i>n</i> = 9	2,0 ± 0,9 <sup>a</sup> <i>n</i> = 8	3,1 ± 1,6 <sup>a</sup> <i>n</i> = 3

NA = não se aplica; Diferentes letras sobrescritas na mesma linha são diferentes significativamente (por Test *t* ou *Oneway* ANOVA, seguido de pós-teste de Tukey). Valores estão expressos média ± desvio padrão. ∑4 Dobras cutâneas = Somatório de dobras cutâneas de perna, suprailíaca, subscapular e tríceps.

Foi observado que entre os três componentes determinantes para classificação do somatotipo (endomorfia, mesomorfia e ectomorfia), a endomorfia destacou-se pela diferença significativa encontrada no valor médio entre os grupos classificados por metabotipo (**Figura 23**). Em relação ao valor médio de mesomorfia e ectomorfia, não foram verificadas diferenças significativas entre os metabotipos. Nos homens, os indivíduos UM-0 tiveram em média um valor de endomorfia significativamente inferior aos demais metabotipos, e comparando os valores médios de endomorfia entre indivíduos UM-A e UM-B não foram observadas diferenças significativas. Também não houve diferenças significativas na média entre os grupos em função da ectomorfia e endomorfia. Nas mulheres, foi observado uma diferença significativa apenas no valor médio de mesomorfia. Em média, as mulheres classificadas como UM-B possuíam maior valor de mesomorfia em comparação às mulheres UM-A.



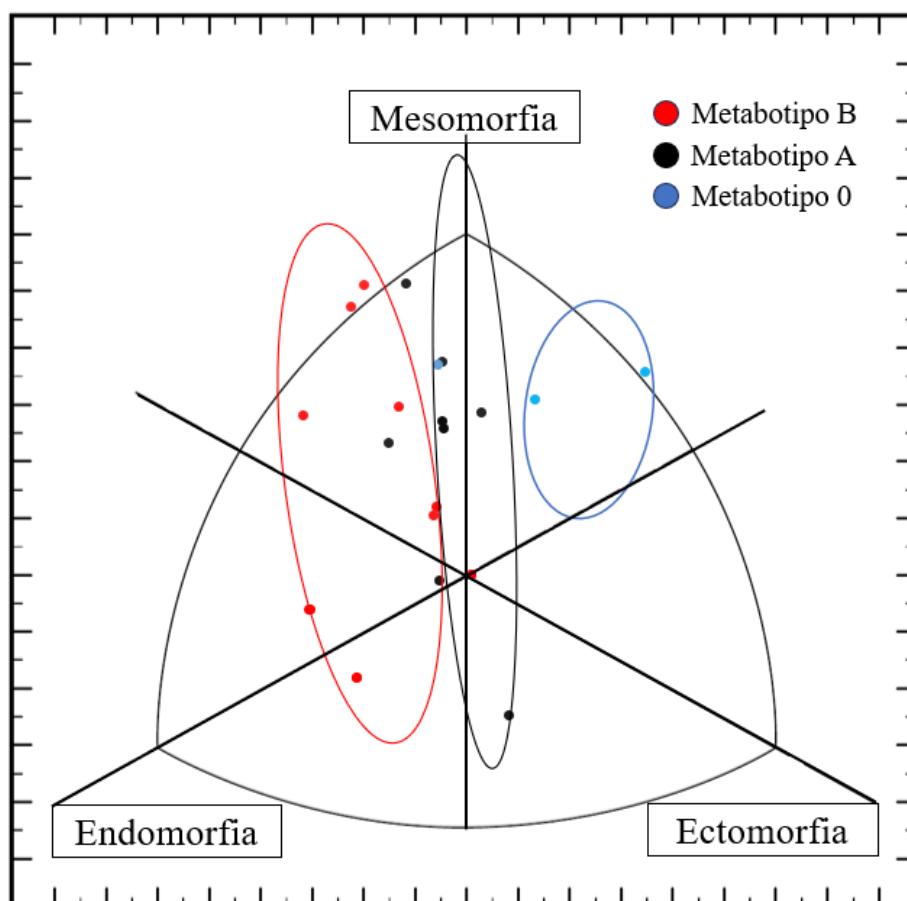
**Figura 23.** Frequência dos voluntários sobre as variáveis associadas ao metabotipo vs somatotipo. A = voluntários mesomorfos dominantes, B = voluntários não mesomorfos dominantes.

No presente estudo houve uma alta prevalência de indivíduos de predominância somatotípica de mesomorfia. Para esses indivíduos, houve uma associação significativa entre a classificação do somatotipo e o metabotipo. Dos três indivíduos classificados como UM-0, dois apresentavam a classificação de mesomorfo-ectomórfico e um mesomorfo equilibrado. Entre os indivíduos classificados como UM-B, 85% foram classificados como mesomorfo endomórfico, e o restante como mesomorfo equilibrado. Dois terços dos voluntários mesomórficos classificados como UM-A apresentaram a somatotopia de mesomorfo

equilibrado. Nos indivíduos endomórficos todos possuíam características UM-B enquanto o único indivíduo predominantemente ectomórfico foi classificado como UM-A. Os indivíduos classificados como central (valores dos três componentes iguais ou não diferem mais que meia unidade) possuíam uma distribuição igual entre o UM-A e UM-B.

Todas as mulheres classificadas como mesomorfo endomórficas eram UM-B. As mulheres não pertencentes a essa classificação no somatotipo foram todas classificadas como UM-A. Não houve mulheres UM-0.

Ao observar o somatocarta é possível verificar a distribuição dos indivíduos e identificá-los através do metabotipo (**Figura 24**). O ângulo superior indica o grau de mesomorfia, o ângulo inferior direito indica o grau de ectomorfia e o esquerdo o grau de endomorfia. Os indivíduos categorizados como metabotipo 0 estão em sua maioria localizados ao lado direito do somatocarta, enquanto os indivíduos metabotipo B estão concentrados mais ao lado esquerdo do somatocarta. Já os indivíduos classificados como metabotipo A estão distribuídos de forma mista, porém em sua maioria próximo ao centro do somatocarta.



**Figura 24.** Disposição dos voluntários no somatocarta.

Este trabalho é o primeiro, até onde se sabe, na investigação da relação entre metabotipo de elagitaninos com o somatotipo. Nossos resultados limitam-se a indivíduos eutróficos, sendo necessário investigar essa relação com indivíduos com sobrepeso e obesidade (segundo IMC). Selma e colaboradores (2018) demonstraram que o UM-B é potencialmente um marcador para doenças cardiometabólicas, sendo essa condição clínica amplamente associada com as variáveis antropométricas. Já foi relatado também que a forma corporal (incluindo o somatotipo) está intimamente relacionada com alguns distúrbios metabólicos. Esparza-Ros e Vaquero-Cristóbal (2023) afirma que o somatotipo pode ser utilizado como um indicador de saúde através de somatozonas de saúde. Segundo os autores, a região esquerda e superior do somatocarta pode apresentar uma zona de risco para a saúde pois já foi associado a enfermidades cardiovasculares, diabetes, dilipidemias e câncer do endométrio.

O UM-B também é um possível marcador de disbiose (Cortés-Martin et al., 2019), assim como o excesso de gordura corporal (Pacheco & Soares, 2021). Nesse sentido, foi relatado diferenças significativas na composição da microbiota em função do metabotipo. Indivíduos UM-B apresentam maior abundância relativa de filos *Synergistetes* em comparação ao UM-A. Em contrapartida, a família *Lachnospiraceae* foi associada ao UM-A (García-Mantrana et al., 2019). Em um estudo com mulheres (eutróficas:  $n = 48$ ; obesidade:  $n = 44$ ) foi observado uma associação da composição da microbiota intestinal com diferentes marcadores de obesidade (RCQ; % de gordura), e bactérias específicas como a *Synergistetes* foi associada a uma maior adiposidade corporal (Aljazairy et al., 2022). Em um outro estudo, foi comparado a microbiota oral de indivíduos altamente ativos e indivíduos sedentários, no qual foi observado que as bactérias *Lachnospiraceae* foram maiores para os indivíduos altamente ativos, naturalmente com menor adiposidade corporal (Baskan & Zorba, 2022).

Diante disso, é possível justificar os resultados da diferença na composição corporal entre os metabotipos. O perfil da microbiota de indivíduos UM-B pode ter alguma semelhança com os indivíduos com maior adiposidade corporal, enquanto nos indivíduos UM-A o perfil pode apresentar semelhanças a de indivíduos com menor adiposidade corporal. No entanto, é difícil estabelecer uma relação causal, no sentido da adiposidade podendo exercer influência ou sendo influenciado pela microbiota intestinal. Nessa mesma linha, García-Villalba e colaboradores, (2022) afirmam que o metabolismo dos elagitaninos pode ser afetado pela composição da microbiota, por outro lado, a microbiota pode ser modulada pelo consumo frequente de alimentos fontes de elagitaninos.



Para uma compreensão melhor entre a composição corporal, forma corporal e o metabolismo de elagitaninos é necessário um estudo mais amplo, com indivíduos com diferentes perfis nutricionais, de diferentes regiões e que possuem diferentes estilos de vida. Além disso, faz-se necessário, aprofundar o estudo da microbiota intestinal e a sua relação com a composição corporal e o metabolismo dos elagitaninos.

## 7. CONCLUSÕES

Esse estudo verificou que a hidrólise ácida por 6 horas na farinha da casca e semente da jabuticaba e posterior liofilização, promoveu a liberação do ácido elágico. O consumo da farinha de jabuticaba hidrolisada aumentou significativamente a excreção total de urolitinas em indivíduos eutróficos nos intervalos 0-36 h, 0-48 h e 0-72 h, quando comparado a farinha de jabuticaba. Destaca-se que ainda foi identificada quantidade significativa de urolitinas em 72 h após o consumo da farinha de jabuticaba, demonstrando que é necessário a realização de outros estudos que avaliem um tempo de coleta maior. A composição corporal entre os indivíduos categorizadas nos diferentes metabotipos apresentou diferença significativa, no qual os indivíduos metabotipo B apresentaram maior adiposidade corporal, e indivíduos metabotipo A apresentaram maior percentual de gordura comparado aos indivíduos metabotipo 0. Houve uma diferença significativa na endomorfia entre os metabotipos, e também diferenças na mesomorfia entre as mulheres de diferentes metabotipos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 8, p. 1679–1687, 2012.

ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 254-259, 2010.

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.A.; SERNA-SALDÍVAR, S.O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, n. 1, p. 46-55, 2014.

ALBUQUERQUE, B. R. et al. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125735, 2020.

ALEXOVA, R. et al. Anti-COVID-19 Potential of Ellagic Acid and Polyphenols of *Punica granatum* L. **Molecules**, v. 28, n. 9, p. 3772, 2023.

ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468-477, 2013.

ALJAZAIRY, E. A. et al. Influence of adiposity on the gut microbiota composition of Arab women: A case-control study. **Biology**, v. 11, n. 11, p. 1586, 2022.

ALMEIDA, R. L. et al. Determinação de compostos bioativos e composição físico-química da farinha da casca de jaboticaba obtida por secagem convectiva e liofilização. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. e157911876-e157911876, 2020.

ANDERSON, K. J. et al. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 11, p. 2837-2842, 2001.

ARAÚJO, C. R. R. et al. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 2, p. 262–267, 2014.

ARAGÓN-VELA, J. et al. Impact of exercise on gut microbiota in obesity. **Nutrients**, v. 13, n. 11, p. 3999, 2021.

BALISTEIRO, D. M. et al. Effect of clarified Brazilian native fruit juices on postprandial glycemia in healthy subjects. **Food Research International**, v. 100, n. 2, p. 196-203, 2017.

BANIHANI, S.; SWEDAN, S.; ALGURAAN, Z. Pomegranate and type 2 diabetes. **Nutrition Research**, v. 33, n. 5, p. 341-348, 2013.

BASKAN, A. H. & ZORBA, E. Examination of Some Bacteria Types in the Oral Microbiota of Athletes and Sedentary Individuals. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, v. 16, n. 02, p. 423-423, 2022.

BATISTA, Â. G. et al. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg.) peel improved triglycerides excretion and hepatic lipid peroxidation in high-fat-fed rats. *Revista de Nutrição*, v. 26, p. 571-581, 2013.

BATISTA, Â. G. et al. Jaboticaba berry peel intake prevents insulin-resistance-induced tau phosphorylation in mice. ***Molecular Nutrition and Food Research***, v. 61, n. 10, p. 1–10, 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 331 de 23 de dezembro de 2019. Padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. ***Diário Oficial da República Federativa do Brasil***, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019a.

BRASIL, Ministério da Saúde. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Listas de padrões microbiológicos para alimentos. ***Diário Oficial da República Federativa do Brasil***, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019b.

BRIONES-LABARCA, V.; GIOVAGNOLI-VICUÑA, C.; CAÑAS-SARAZÚA, R. Optimization of extraction yield, flavonoids and lycopene from tomato pulp by high hydrostatic pressure-assisted extraction. ***Food chemistry***, v. 278, p. 751-759, 2019.

CABALLERO, V. et al. Biodegradation of punicalagin into ellagic acid by selected probiotic bacteria: a study of the underlying mechanisms by MS-based proteomics. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v. 70, n. 51, p. 16273-16285, 2022.

COLLONI, C. et al. Jaboticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel) improved the lipid profile and immune system and reduced oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. ***Journal of Food Biochemistry***, v. 44, n. 9, p. e13383, 2020.

CELESTINO, S. M. C.. Princípios de secagem de alimentos. – Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010.

CERDÁ, B.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts, and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 227–235, 2005.

CARTER, J. E. L.; HEATH, B. H. Somatotyping: development and applications. **Cambridge University Press**, 1990.

CHANG, S. K.; ALASALVAR, C.; SHAHIDI, F. Superfruits: phytochemicals, antioxidant efficacies, and health effects – a comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 10, p. 1580-1694, 2019.

CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, e os números das páginas, 2010.

COLLONI, C. et al. Jabuticaba (*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel) improved the lipid profile and immune system and reduced oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **J Food Biochem**.44:e13383. 2020.

CORTÉS-MARTÍN, A. et al. The gut microbiota urolithin metabotypes revisited: the human metabolism of ellagic acid is mainly determined by aging. **Food & Function**, v. 9, n. 8, p. 4100-4106, 2018.

CORTÉS-MARTÍN, A. et al. Urolithin metabotypes can anticipate the different restoration of the gut microbiota and anthropometric profiles during the first year postpartum. **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 2079, 2019.

CORTÉS-MARTÍN, A. et al. Where to look into the puzzle of polyphenols and health? The postbiotics and gut microbiota associated with human metabotypes. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, n. 9, p. 1900952, 2020.

CLIFFORD, M. N.; SCALBERT, A. Ellagitannins–nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1118-1125, 2000.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability, and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 8, p. 1001-1043, 2009.

DANIEL, E. M. et al. Extraction, stability, and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 2, n. 4, p. 338-349, 1990.

DA SILVA, J. K. et al. Functional tea from a Brazilian berry: Overview of the bioactive compounds. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 292–298, 2017.

DEL RIO, D. et al. Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818-1892, 2013.

DELANGHE, J. R.; SPEECKAERT, M. M. Preanalytics in urinalysis. **Clinical Biochemistry**, v. 49, n. 18, p. 1346-1350, 2016.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001.

DOS SANTOS FONTES, A. et al. Estudo da influência de diferentes métodos de secagem no teor de licopeno e na composição físico-química em produtos de tomate. **Galoá**. 2019.

DIAS, D. R. et al. Vinegar production from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) fruit using immobilized acetic acid bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, v. 54, n. 3, p. 351, 2016.

EKAMBARAM, S. P.; PERUMAL, S. S; BALAKRISHNAN, A. Scope of hydrolysable tannins as possible antimicrobial agent. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 7, p. 1035-1045, 2016.

ESEBERRI, I. et al. Variability in the beneficial effects of phenolic compounds: A review. **Nutrients**, v. 14, n. 9, p. 1925, 2022.

ESPÍN, J. C. et al. Biological significance of urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: the evidence so far. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-15, 2013.

ESPÍN, J. C.; GARCÍA-CONESA, M. T.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Nutraceuticals: facts and fiction. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2986-3008, 2007.

EVTYUGIN, D. D.; MAGINA, S.; EVTUGUIN, D. V. Recent advances in the production and applications of ellagic acid and its derivatives. A review. **Molecules**, v. 25, n. 12, p. 2745, 2020.

FILHO, F. J.; FERNANDES, P. R.; CARNAVAL, P. E. Avaliação física: cineantropometria e aptidão cardiorrespiratória. Belo Horizonte: Casa da Educação Física, p.101- 115. 2018.

FISCHER, U. A.; CARLE, R.; KAMMERER, D. R. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. **Food Chemistry**, v. 127, n. 2, p. 807-821, 2011.

GALANAKIS, C. M. Functionality of food components and emerging technologies. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 128, 2021.

GARCÍA-CONESA, M. T. et al. Meta-analysis of the effects of foods and derived products containing ellagitannins and anthocyanins on cardiometabolic biomarkers: Analysis of factors influencing variability of the individual responses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 694, 2018.

GARCÍA-MANTRANA, I. et al. Urolithin Metabotypes Can Determine the Modulation of Gut Microbiota in Healthy Individuals by Tracking Walnuts Consumption over Three Days. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2483, 2019.

GARCÍA-VILLALBA, R. et al. Validated method for the characterization and quantification of extractable and nonextractable ellagitannins after acid hydrolysis in pomegranate fruits, juices, and extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 29, p. 6555-6566, 2015.

GARCÍA-VILLALBA, R.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Chromatographic and spectroscopic characterization of urolithins for their determination in biological samples after the intake of foods containing ellagitannins and ellagic acid. **Journal of Chromatography A**, v. 1428, p. 162-175, 2016.

GARCÍA-VILLALBA, R. et al. Identification of novel urolithin metabolites in human feces and urine after the intake of a pomegranate extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 40, p. 11099-11107, 2019.

GARCÍA-VILLALBA, R. et al. Urolithins: a comprehensive update on their metabolism, bioactivity, and associated gut microbiota. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 66, n. 21, p. 2101019, 2022.

GARCÍA-VILLALBA, R. et al. Ellagitannins, urolithins, and neuroprotection: Human evidence and the possible link to the gut microbiota. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 89, p. 101109, 2023.

GONZÁLEZ-BARRIO, R. et al. Metabolism of oak leaf ellagitannins and urolithin production in beef cattle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3068–3077, 2012.

GONZÁLEZ-SARRÍAS, A. et al. Identifying the limits for ellagic acid bioavailability: A Crossover pharmacokinetic study in healthy volunteers after consumption of pomegranate extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 225–235, 2015.

GONZÁLEZ-SARRÍAS, A. et al. Clustering according to urolithin metabotype explains the interindividual variability in the improvement of cardiovascular risk biomarkers in overweight-obese individuals consuming pomegranate: A randomized clinical trial. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 61, n. 5, p. 1–14, 2016.

GONÇALVES, B. et al. Metabolite composition of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) upon cooking: Proximate analysis, fibre, organic acids and phenolics. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 154-160, 2010.

GÓMEZ-MAQUEO, A. et al. Bioaccessibility of antioxidants in prickly pear fruits treated with high hydrostatic pressure: An application for healthier foods. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5252, 2021.

GRACE, M. H. et al. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts. **Food Chemistry**, v. 210, p. 85–95, 2016.

GULATI, S. et al. Effects of pistachio nuts on body composition, metabolic, inflammatory and oxidative stress parameters in Asian Indians with metabolic syndrome: a 24-wk, randomized control trial. **Nutrition**, v. 30, n. 2, p. 192-197, 2014.

HACKE, A. C. M. et al. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seeds: chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. 2206-2217, 2016.

HAZIM, S. et al. Acute benefits of the microbial-derived isoflavone metabolite equol on arterial stiffness in men prospectively recruited according to equol producer phenotype: a double-blind randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 3, p. 694-702, 2016.

HOGAN, E.; KELLY, A. L.; SUN, D.-W. High Pressure Processing of Foods: An Overview. **Emerging technologies for food processing**, p. 3–32, 2005.



IGLESIAS-AGUIRRE, C. E. et al. Gut Bacteria Involved in Ellagic Acid Metabolism To Yield Human Urolithin Metabotypes Revealed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 4029-4035, 2023.

INADA, K. O. P. et al. Jaboticaba berry: A comprehensive review on its polyphenol composition, health effects, metabolism, and the development of food products. **Food Research International**, v. 147, p. 110518, 2021.

INADA, K. O. P. et al. Effect of high hydrostatic pressure and drying methods on phenolic compounds profile of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed. **Food Chemistry**, v. 309, n. 125794, p. 1-29, 2020.

INADA, K. O. P. et al. Metabolism of ellagitannins from jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) in normoweight, overweight and obese Brazilians: Unexpected laxative effects influence urolithins urinary excretion and metabotype distribution. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 299–308, 2019.

INADA, K. O. P. et al. High hydrostatic pressure processing affects the phenolic profile, preserves sensory attributes and ensures microbial quality of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 1, p. 231-239, 2018.

INADA, K. O. P. et al. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 52-61, 2018a.

INADA, K. O. P. **Effect of technological processes on phenolic compounds contents of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel and seed and investigation of their ellagitannins metabolism in humans**. 2018. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018b.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 2015.

KANG, I. et al. Improvements in metabolic health with consumption of ellagic acid and subsequent conversion into urolithins: evidence and mechanisms. **Advances in Nutrition**, v. 7, n. 5, p. 961-972, 2016.

KHARAGHANI, A. et al. Freeze-drying. In: Hogdson R.H. (Ed). Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2017, 1-47.

KISS, A.; PIWOWARSKI, J. Ellagitannins, gallotannins and their metabolites- the contribution to the anti-inflammatory effect of food products and medicinal plants. **Current Medicinal Chemistry**, v.23, n.999, p.1-1, 2016.

KREIJKAMP-KASPERS, S. et al. Randomized controlled trial of the effects of soy protein containing isoflavones on vascular function in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 189-195, 2005.

LANDETE, J. M. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: a review about source, metabolism, functions and health. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p.1150-1160, 2011.

LAVINAS, F. C.; LOPES, M. L. M.; MESQUITA, V. L. V.. Efeito da alta pressão hidrostática sobre a inativação de microrganismos. **B. CEPPA**, v. 25, n. 1, p. 25-36, 2007.

LEE, H. J. et al. Urolithin A suppresses high glucose-induced neuronal amyloidogenesis by modulating TGM2-dependent ER-mitochondria contacts and calcium homeostasis. **Cell Death & Differentiation**, v. 28, n. 1, p. 184-202, 2021.

LEITE, I. B. **Potential of jabuticaba powder to modify urolithin excretion independent of weight in adults: a clinical study controlled by placebo**. Rio de Janeiro, 2023. Tese (Doutorado em Ciências Nutricionais) – Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596–603, 2012.

LIMA, A. D. J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 877–887, 2011.

LIU, Z. M. et al. Randomized controlled trial of whole soy and isoflavone daidzein on menopausal symptoms in equol-producing Chinese postmenopausal women. **Menopause**, v. 21, n. 6, p. 653-660, 2014.

LIPÍŃSKA, L.; KLEWICKA, E.; SOJKA, M. Structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 13, n. 3, p. 289-299, 2014.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. [2ª edição]. Instituto Plantarum, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2016.

LOPES, M. L. M. et al. High hydrostatic pressure processing of tropical fruits: Importance for maintenance of the natural food properties. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1189, n. 1, p. 6-15, 2010.

LUDWIG, I. A. et al. New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 89, p. 758-769, 2015.

MUTHUKUMARAN, S. et al. Ellagic acid in strawberry (*Fragaria* spp.): Biological, technological, stability, and human health aspects. **Food Quality and Safety**, v. 1, n. 4, p. 227-252, 2017.

MAHAN, L. K.; RAYMOND, J. L. Krause Alimentos, Nutrição & Dietoterapia. 14 Edição. São Paulo, Editora Roca, 2018.

MALIK, N. S. A. et al. Phenolic compounds and fatty acid composition of organic and conventional grown pecan kernels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 13, p. 2207-2213, 2009.

MANACH, C. et al. Addressing the inter-individual variation in response to consumption of plant food bioactives: towards a better understanding of their role in healthy aging and cardiometabolic risk reduction. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 6, p. 1-16, 2017.

MONTES-ÁVILA, J.; LÓPEZ-ANGULO, G.; DELGADO-VARGAS, F. Tannins in fruits and vegetables: Chemistry and biological functions. In: Yahia, E. M (Ed.). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. **Hoboken: Wiley-Blackwell**, p. 221–268, 2017.

MOLINO, S.; FRANCINO, M. P.; HENARES, J. Á. R. Why is it important to understand the nature and chemistry of tannins to exploit their potential as nutraceuticals? **Food Research International**, p. 113329, 2023.

MOURA, M. H. C. et al. Phenolic-rich jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) extracts prevent high-fat-sucrose diet-induced obesity in C57BL/6 mice. **Food Research International**, v. 107, p. 48–60, 2018.

MERTENS-TALCOTT, S. U. et al. Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenols after ingestion of a standardized extract in healthy human volunteers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 23, p. 8956-8961, 2006.

NERI-NUMA, I. A. et al. Small brazilian wild fruits: nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p.345-360, 2018.

NUÑEZ-SÁNCHEZ, M. A. et al. Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, n. 6, p.1199-1211, 2014.

OLIVEIRA, G. P. et al. Origin and development of reproductive buds in jaboticaba cv. Sabará (Plinia jaboticaba Vell). **Scientia Horticulturae**, v. 249, p. 432-438, 2019.

PACHECO, A. M. P. SOARES, C. Q. G. Disbiose associada à Doenças Metabólicas: OBESIDADE. **Revista Científica UNIFAGOC**, 2021. COMPLETAR

PEREIRA, L. D. et al. Polyphenol and ellagitannin constituents of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and chemical variability at different stages of fruit development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 6, p. 1209–1219, 2017.

PELVAN, E. et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin). **Food Chemistry**, v. 244, p. 102–108, 2018.

POMPEU, F. Manual de biometria para avaliação do desempenho humano. Editorial **Bubok**. P-55. 2020.

PETROSKI, E. L.. **Desenvolvimento e validação de equações generalizadas para a estimativa da densidade corporal em adultos**. 1995. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

PLAZA, M. et al. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, p. 185-197, 2016.

PODSEDEK, A. et al. Matrix effects on the stability and antioxidant activity of red cabbage anthocyanins under simulated gastrointestinal digestion. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-11, 2014.

PUUPPONEN-PIMIA, R. et al. Effects of ellagitannin-rich berries on blood lipids, gut microbiota, and urolithin production in human subjects with symptoms of metabolic syndrome. **Molecular Nutrition Food Research**, p. 1–6, 2013.

QUATRIN, A. et al. Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyanins and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: A comparison between *Myrciaria trunciflora* and *M. jaboticaba*. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 78, p. 59-74, 2019.

REDONDO-USEROS, N. et al. Microbiota and lifestyle: a special focus on diet. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1776, 2020.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, 2008.

RIBAS-AUGUSTÍ, A. et al. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 15, p. 2531-2548, 2017.

ROCHA, P. E. C. Medidas e avaliação em ciências do esporte – Rio de Janeiro: 7ª edição: Sprint, 2008.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. et al. Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 33-43, 2015.

ROPACKI, S. A. et al. Pomegranate supplementation protects against memory dysfunction after heart surgery: a pilot study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

ROSS, M. M. et al. A randomized controlled trial investigating the impact of maternal dietary supplementation with pomegranate juice on brain injury in infants with IUGR. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 3569, 2021.

SANTIAGO, M. C. P. A. et al. Determinação de punicalagina em romã (*Punica granatum* L.) por cromatografia líquida de alta eficiência. 2014.

SELMA, B. S. G. et al. Description of urolithin production capacity from ellagic acid of two humans intestinal *Gordonibacter* species. **Food & Function**, v. 5, n. 8, p. 1779–1784, 2014.

SELMA, M. V. et al. The gut microbiota metabolism of pomegranate or walnut ellagitannins yields two urolithin-metabotypes that correlate with cardiometabolic risk biomarkers: Comparison between normoweight, overweight-obesity and metabolic syndrome. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 3, p. 897-905, 2018.

SEERAM, N. P.; LEE, R.; HEBER, D. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. **Clinica Chimica Acta**, v. 348, n. 1-2, p. 63-68, 2004.

SEYHAN, S.; YALCIN, G.; AYAZ SEYHAN, S. The extraction and determination of ellagic acid and resveratrol in blueberry species by HPLC-DAD and LCMS/MS. **Journal of Research in Pharmacy**, v. 27, n. 1, 2023.

SERAGLIO, S. K. T. et al. Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 239, p. 649-656, 2018.

SERRANO, J. et al. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, n. S2, p. S310-S329, 2009.

SHARIFI-RAD, J. et al. Ellagic acid: A review on its natural sources, chemical stability, and therapeutic potential. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, 2022 (CHECAR).

SILVA, B. S. G. **Hidrólise ácida como estratégia para a despolimerização dos elagitaninos da casca e semente da jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

SILVA, R. M. et al. Protective effect and induction of DNA repair by *Myrciaria cauliflora* seed extract and pedunculagin on cyclophosphamide-induced genotoxicity. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 810, p. 40-47, 2016.

SOARES, E. R. Impacto da ingestão de farinha de jabuticaba em parâmetros metabólicos e na microbiota intestinal em modelo murino de obesidade. Tese de Doutorado. UERJ. 2020.

SMERIGLIO, A. et al. Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 8, p. 1265-1286, 2016.

SLATNAR, A. et al. Identification and quantification of phenolic compounds in kernels, oil and bagasse pellets of common walnut (*Juglans regia* L.). **Food Research International**, v. 67, p. 255-263, 2015.

STRASSER, B. et al. The effects of lifestyle and diet on gut microbiota composition, inflammation and muscle performance in our aging society. **Nutrients**, v. 13, n. 6, p. 2045, 2021.

TEIXEIRA, L. L. et al. Identification of ellagitannins and flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5417-5427, 2015.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A. et al. Ellagic acid metabolism by human gut microbiota: consistent observation of three urolithin phenotypes in intervention trials, independent of food source, age, and health status. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 28, p. 6535-6538, 2014.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C.; GARCÍA-CONESA, M. T. Bioavailability and metabolism of ellagic acid and ellagitannins. In: *Chemistry and biology of ellagitannins: an underestimated class of Bioactive plant polyphenols*. 2009. p. 273-297.



TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; SELMA, M. V.; ESPÍN, J. C. Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 19, n. 6, p. 471–476, 2016.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A. et al. Urolithins, the rescue of “old” metabolites to understand a “new” concept: Metabotypes as a nexus among phenolic metabolism, microbiota dysbiosis, and host health status. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 1, p. 1-35, 2017.

TROMBOLD, J. R. et al. The effect of pomegranate juice supplementation on strength and soreness after eccentric exercise. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 25, n. 7, p. 1782-1788, 2011.

TRYCH, U. et al. The bioaccessibility of antioxidants in black currant puree after high hydrostatic pressure treatment. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3544, 2020.

TRUCHADO, P. et al. Strawberry processing does not affect the production and urinary excretion of urolithins, ellagic acid metabolites, in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5749-5754, 2012.

TU, H. J. et al. Urolithin A exhibits a neuroprotective effect against Alzheimer’s disease by inhibiting DYRK1A activity. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 31, n. 2, p. 358, 2023.

VEGA-GÁLVEZ, A et al. Influence of high hydrostatic pressure on quality parameters and structural properties of aloe vera gel (*Aloe barbadensis* Miller). **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2481-2489, 2014.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R. et al. Phenolic compounds: their journey after intake. **Food & Function**, v. 5, n. 2, p. 189-197, 2014.

VERMERRIS, W. & NICHOLSON, R. Families of phenolic compounds and means of classification. **Phenolic Compound Biochemistry**, p. 1-34, 2006.

VILLANUEVA-MILLÁN, M. J.; PÉREZ-MATUTE, P.; OTEO, J. A. Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 71, p. 509-525, 2015.

VRIEZE, A. et al. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. **Diabetologia**, v. 53, p. 606-613, 2010.

VRHOVSEK, U. et al. Concentration and mean degree of polymerization of Rubus ellagitannins evaluated by optimized acid methanolysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4469-4475, 2006.

WANG, W. H. et al. Evaluation of the antioxidant activity and antiproliferative effect of the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) seed extracts in oral carcinoma cells. **Biomed Research International**, v. 2014, pp. 1–7, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Physical status: the use and interpretation of report anthropometry: report of a WHO Expert Committee**. Geneva: WHO; 1995.

WU, S.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148-159, 2013.

WU, S. B. et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7513-7525, 2012.

YANG, X. & TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Tea is a significant dietary source of ellagitannins and ellagic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 19, p. 1-40, 2018.

ZHANG, Y. et al. Absence of pomegranate ellagitannins in the majority of commercial pomegranate extracts: implications for standardization and quality control. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 16, p. 7395-7400, 2009.

ZHANG, Y. L. et al. Identification of candidate genes involved in anthocyanin accumulation in the peel of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) fruits by transcriptomic analysis. **Gene**, v. 676, p. 202-213, 2018.

ZHANG, X. et al. Functional deficits in gut microbiome of young and middle-aged adults with prediabetes apparent in metabolizing bioactive (poly) phenols. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3595, 2020.