

ARTIGO ORIGINAL

Análise Bromatológica e Avaliação das Propriedades Antioxidantes do Suco Pasteurizado de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) Fermentado por *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595

Daniel dos Santos Guimarães¹; Camila Caetano da Silva ²
Kátia Sayuri Aragão Aguiar³; Alexia Figueiredo Ferreira⁴; Marcos Andrade Silva⁵
Luís Cláudio Nascimento da Silva⁶; Adrielle Zagnignan⁷

Destaques

- (1) A fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595 aumentou a capacidade antioxidante do suco de cupuaçu.
- (2) O suco atendeu aos padrões microbiológicos, com *L. rhamnosus* mantendo-se estável por 28 dias.
- (3) Suco fermentado manteve a atividade antioxidante durante o armazenamento por 28 dias.

RESUMO

O presente trabalho realizou a análise bromatológica e avaliou as propriedades antioxidantes do suco pasteurizado de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) fermentado por *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595. Os sucos foram pasteurizados (80 °C/10 minutos) para posterior fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 9595 (inóculo de 10⁸ UFC). Após 48 horas foi analisada a viabilidade de *L. rhamnosus*, produção de ácidos orgânicos e resistência à lisozima e sais biliares. As amostras foram mantidas sob refrigeração durante 28 dias para análises bromatológicas. Os sucos foram submetidos à extração com acetato de etila para avaliação da atividade antioxidante, dosagem de compostos fenólicos e flavonoides. *L. rhamnosus* ATCC 9595 cresceu no suco pasteurizado de cupuaçu (~9 Log UFC/mL), mantendo-se estável durante os 28 dias (p>0,05). Todas as amostras estavam nos padrões microbiológicos estabelecidos pelas diretrizes brasileiras para sucos. De igual modo, não foram detectadas alterações significativas nos teores de Cinzas, umidade e B° nos períodos analisados (p>0,05). *L. rhamnosus* ATCC 9595 cultivado no suco ou MRS resistiu à ação da lisozima (100 mg/L) e sais biliares (0,5% e 1,0%). A capacidade antioxidante do suco de cupuaçu aumentou significativamente após a fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595 e teores de compostos fenólicos. As amostras de suco fermentados apresentaram valores de IC50 semelhantes durante o armazenamento, enquanto o extrato não fermentado apresentou variação a partir do 21º dia. Os resultados da fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595 são estratégias eficientes para aumentar as características antioxidantes do suco de cupuaçu.

Palavras-chave: fermentação; suco de fruta; probióticos; alimento funcional; radicais livres.

¹ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0009-0007-6699-596X>

² Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0009-0003-2830-7821>

³ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0009-0000-1550-2132>

⁴ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0009-0000-1550-2132>

⁵ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-6558-2863>

⁶ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-4206-0904>

⁷ Universidade Ceuma. São Luís/MA, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-9865-2223>

INTRODUÇÃO

Os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ERO) possuem papéis importantes na etiologia de patologias degenerativas (Mal de Parkinson, Doença de Alzheimer), câncer, diabetes e distúrbios inflamatórios¹. Neste sentido, os organismos desenvolveram diversas estratégias visando o controle destes agentes que, em conjunto, compõem o sistema de defesa antioxidante formado por enzimas (como a superóxido dismutase e catalase) e proteínas (glutathione, tioredoxina)². Em muitas situações, no entanto, este sistema não consegue lidar com a superprodução de espécies reativas, gerando um estado denominado de estresse oxidativo, estando este relacionado com as manifestações clínicas supradescritas^{3,4}.

Uma forma alternativa de retardar os danos causados pelos radicais livres é o uso de alimentos com propriedades antioxidantes que agem por diferentes mecanismos^{1,5}. As frutas são reconhecidas como excelentes fontes de compostos bioativos (como proteínas, vitaminas, carboidratos solúveis, flavonoides e outros compostos fenólicos)⁶. Por exemplo, o suco e a polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) possuem compostos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e hipoglicemiantes⁷⁻⁹.

Recentemente foi relatado o desenvolvimento de um suco de cupuaçu potencialmente probiótico baseado na incorporação de *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 (= *Lactobacillus rhamnosus*)⁹. Esta linhagem foi selecionada devido às suas propriedades antimicrobianas e imunomoduladoras^{10,11}. A fermentação do suco de cupuaçu com *L. rhamnosus* ATCC 9595 causou alterações no perfil metabólico do suco de cupuaçu devido à biotransformação e o aumento na concentração de alguns compostos bioativos⁹.

Adicionalmente, a fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595 promoveu o aumento das propriedades anti-inflamatórias observadas em modelos murinos de endotoxemia induzida por lipopolissacarídeo⁹. A fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 9595 também foi empregada para a melhoria das características funcionais do suco de bacuri. O suco de bacuri (*Platonia insignis*) fermentado apresentou efeitos anti-infecciosos superiores aos observados para o suco não fermentado, prolongando a sobrevivência de larvas de *Tenebrio molitor* infectadas por uma linhagem de *Escherichia coli* enteroagregativa¹².

Diante do potencial biotecnológico de *L. rhamnosus* ATCC 9595 para produção de bebidas potencialmente probiótica, o presente trabalho realizou a análise bromatológica e avaliou as propriedades antioxidantes do suco pasteurizado de cupuaçu fermentado por *L. rhamnosus* ATCC 9595 armazenado por 28 dias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo dos sucos pasteurizados e fermentação com *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595

Os frutos do Cupuaçu foram obtidos em São Luís (Maranhão, Brasil). A polpa dos frutos foi retirada manualmente e armazenada a -20 °C até o seu preparo. Em cada experimento amostras (30 g) de polpa foram dissolvidas em 250 mL de água destilada (120 mg/mL) e o pH ajustado para 6,0. Em seguida, cada suco foi submetido à pasteurização (80 °C por 10 min). O suco foi transferido para recipiente com gelo até atingir a temperatura ambiente, e, posteriormente, 1 mL de suspensão de *L. rhamnosus* ATCC 9595 (10⁸ UFC/mL) foi adicionado. As culturas foram incubadas sob agitação (120 rpm). Após 48 horas as amostras foram diluídas em série utilizando solução salina tamponada com fosfato (PBS) e plaqueadas em Ágar MRS. As placas foram, então, incubadas a 37 °C por 48 horas, e as unidades formadoras de colônias (UFC) foram expressas em UFC/mL⁹.

Avaliação da estabilidade dos sucos durante armazenamento

Viabilidade de Lacticaseibacillus rhamnosus ATCC 9595 no suco pasteurizado de Cupuaçu

Amostras dos sucos fermentados e não fermentados foram armazenadas a 8 °C. Após cada período determinado (7, 14, 21 e 28 dias de refrigeração). A viabilidade de *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi analisada conforme descrito anteriormente.

Análise microbiológicas e físico-química

A pesquisa de microrganismos patogênicos nos sucos armazenados foi realizada segundo a instrução normativa N° 60 de 2019¹³. Durante o período de armazenamento foram analisadas possíveis variações na cor, cinzas totais, umidade e teores de açúcar¹⁴. Cinco amostras por lote fabricado foram utilizadas para cada análise.

Simulação *in vitro* do trato gastrointestinal do *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 no suco de Cupuaçu

Resistência à lisozima

Inicialmente, os microrganismos crescidos em 10 mL de caldo MRS a 37 °C foram centrifugados, lavados duas vezes e suspensos em 2 mL com tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0). Em seguida, 10% da suspensão bacteriana foi inoculada em uma solução eletrolítica estéril (SEE) (0,22 g/L CaCl₂, 6,2 g/L NaCl, 2,2 g/L KCl, 1,2 g/L NaHCO₃) na presença de 100 mg/L de lisozima (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Para controle, a suspensão bacteriana também foi inoculada em SEE sem lisozima. A taxa de sobrevivência foi expressa como porcentagem de UFC/mL após 30 min e 120 min comparando com a contagem determinada no tempo zero.

Teste de tolerância aos sais biliares

O teste de tolerância aos sais biliares foi realizado conforme método previamente descrito, com modificações¹⁵. As soluções de meio MRS e suco não fermentado estéril foram preparadas contendo sais biliares (Oxgall Sigma, EUA) a 0,5% ou 1,0% e pH 7,3. Numa placa de 96 poços foram adicionados 100 µL de cada solução e subsequentemente 10 µL do suco fermentado. A placa foi incubada por 3 horas a 37 °C e os resultados foram lidos no dispositivo espectrofotômetro de 630 nm.

Ensaio antioxidantes *in vitro* do suco de cupuaçu

Amostras (100 mL) dos sucos fermentados e não fermentados foram submetidas à extração líquido-líquido utilizando acetato de etila (1:1; v/v). Após separação, o solvente foi removido por evaporação e os extratos foram armazenados a -20 °C.

Ensaio de DPPH e ABTS

As propriedades sequestradoras de radicais livres dos extratos foram mensuradas usando o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil; Sigma-Aldrich) e usando o radical ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil-benzotiazolína-6-ácido sulfônico), conforme métodos previamente descritos¹⁶.

Dosagem de compostos fenólicos

A dosagem de compostos fenólicos presente nos extratos foi realizada utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. Amostras (200 µL a 1000 µg/mL) foram adicionadas a 1,0 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (1: 1 v/v). Após 3 minutos, foram adicionados 800 µL de carbonato de sódio (20%). A mistura foi incubada à temperatura ambiente, ao abrigo da luz e em repouso durante 2 horas. A absorbância da

mistura foi medida a 765 nm. O conteúdo de fenóis totais foi expresso em $\mu\text{g/mL}$ de equivalentes de ácido gálico (EAG), utilizando uma curva de calibração obtida com a solução padrão de ácido gálico¹⁶.

Dosagem de Flavonoides

Alíquotas das amostras (100 μL em diferentes concentrações) foram misturadas com 100 μL da solução reagente (2 g de Cloreto de Alumínio diluído em solução de etanol a 2%). A mistura foi incubada à temperatura ambiente e ao abrigo de luz e após 60 min a absorbância foi medida a 420 nm. A quantidade de flavonoides calculou-se em $\mu\text{g/mL}$ de Equivalente de quercetina (EQ), utilizando uma curva de calibração construída com solução padrão de quercetina¹⁶.

Análise de dados

Os experimentos foram realizados em triplicata e em três ensaios independentes. Foi utilizado o Excel® para tabulação dos dados e o GraphPad Prism versão 8.1 para análise dos dados usando os testes t de Student ou Análise de variância de uma via (*One-way-Anova*) ou de duas vias (*Two-way-Anova*), dependendo do tipo de experimento. Todos os resultados estão expressos em valores médios dos grupos e analisados considerando o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade de *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 no suco pasteurizado de cupuaçu durante o armazenamento

Inicialmente foi analisado o crescimento de *L. rhamnosus* ATCC 9595 no suco pasteurizado de cupuaçu, sendo obtida uma população de aproximadamente 9 Log UFC/mL, que se manteve estável durante os 28 dias de armazenamento ($p > 0,05$) (Figura 1). O pH do suco após a fermentação foi de $4,2 \pm 0,03$, indicando a produção de ácidos orgânicos. Estes dados estão em consonância com os obtidos na fermentação do suco de cupuaçu esterilizado por autoclavagem⁹.

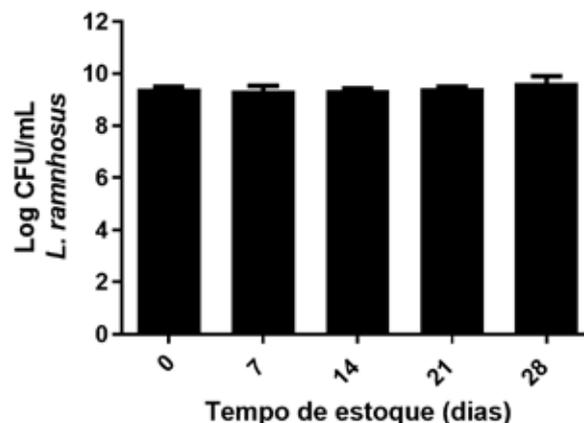


Figura 1 – Armazenamento por 28 dias do *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 em suco pasteurizado de *Theobroma grandiflorum*. $p > 0,05$. Valores analisados pelo teste *One-way-Anova*.

A utilização de probióticos em produtos alimentícios no Brasil requer uma análise prévia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que preconiza que a população de probióticos deve estar situada na faixa de 8 e 9 Log UFC/mL no produto pronto para o consumo¹⁷⁻¹⁹. Neste contexto, o produto formulado nesta pesquisa atende à concentração de probióticos exigida pela Anvisa. Em

adição, foi confirmado que o suco de cupuaçu é uma matriz adequada para propagação de bactérias probióticas, como demonstrado anteriormente⁹.

Apesar de ser mais frequentemente associada ao leite, a fermentação láctica pode ser realizada utilizando matrizes vegetais, como polpas e leites de frutas, desde que contenham açúcares fermentáveis em suas composições²⁰. A incorporação de probióticos em bebidas de origem vegetal aprimora o seu valor nutricional, intensifica ou adiciona características funcionais, além de prolongar a vida útil das bebidas^{9,21}.

Ademais, o desenvolvimento de sucos de frutas e outros produtos vegetais com probióticos possibilita que pessoas com restrições ao leite (veganos, intolerantes à lactose e com alergia à proteína do leite de vaca) tenham acesso aos múltiplos benefícios do consumo desses microrganismos^{21,22}. Estudos recentes demonstram que o consumo de probióticos é crucial para o equilíbrio da microbiota intestinal, melhorando a função digestiva e imunológica²³. Adicionalmente, a suplementação de probióticos tem efeitos benéficos na saúde mental e no tratamento de enfermidades infecciosas e crônicas^{24,25}.

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas revelaram que as amostras de sucos pasteurizados de cupuaçu fermentadas ou não se encontraram nos padrões estabelecidos pelas diretrizes brasileiras para sucos¹³, não apresentando nenhum dos patógenos expostos na Tabela 1 de forma detectável ao longo dos 28 dias de armazenamento.

Tabela 1 – Análise microbiológica de sucos pasteurizados de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)

Patógeno (/mL)	T0	T7	T14	T21	T28
	S/SF	S/SF	S/SF	S/SF	S/SF
Bolores e Leveduras	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
<i>Enterobacteriaceae</i>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
<i>Salmonella</i>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
<i>Escherichia coli</i>	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

S = Suco de cupuaçu; SF = Suco de cupuaçu fermentado

Análises físico-químicas

Durante o período de armazenamento também foram analisadas as possíveis alterações físico-químicas dos produtos. Não foram detectadas alterações significativas nos teores de Cinzas, umidade e B° ($p > 0,05$) nos períodos analisados. Em relação ao pH, o suco não fermentado apresentou um aumento significativo ao final do período de armazenamento ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Análises físico-químicas de sucos pasteurizados de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*)

	Cinzas (%)		Umidade (%)		Brix (B°)		pH	
	S	SF	S	SF	S	SF	S	SF
T0	0,81 ± 0,04 ^{a,1}	0,86 ± 0,06 ^{a,1}	96,92 ± 0,20 ^{a,1}	96,83 ± 0,20 ^{a,1}	3 ^{a,1}	3 ^{a,1}	5,16 ± 0,05 ^{a,1}	4,2 ± 0,03 ^{a,2}
T7	0,81 ± 0,04 ^{a,1}	0,72 ± 0,10 ^{a,1}	96,66 ± 0,03 ^{a,1}	96,61 ± 0,001 ^{a,1}	3 ^{a,1}	3 ^{a,1}	5,26 ± 0,05 ^{b,1}	4,4 ± 0,03 ^{b,2}
T14	0,78 ± 0,20 ^{a,1}	0,84 ± 0,10 ^{a,1}	96,78 ± 0,002 ^{a,1}	96,75 ± 0,03 ^{a,1}	3 ^{a,1}	3 ^{a,1}	5,12 ± 0,04 ^{a,1}	4,32 ± 0,00 ^{c,2}
T21	0,83 ± 0,20 ^{a,1}	0,83 ± 0,08 ^{a,1}	96,56 ± 0,1 ^{a,1}	96,55 ± 0,05 ^{a,1}	3 ^{a,1}	3 ^{a,1}	5,00 ± 0,01 ^{c,1}	4,27 ± 0,01 ^{c,2}
T28	0,81 ± 0,50 ^{a,1}	0,56 ± 0,20 ^{a,1}	96,71 ± 0,01 ^{a,1}	96,60 ± 0,00 ^{a,1}	3 ^{a,1}	3 ^{a,1}	5,95 ± 0,01 ^{d,1}	4,34 ± 0,02 ^{c,2}

S = Suco de cupuaçu; SF = Suco de cupuaçu fermentado. Em cada coluna, valores com diferenças estatisticamente significativas estão indicados por letras sobrescritas (^{a,b,c}) diferentes. Para cada parâmetro analisado em um determinado tempo (linhas), valores com diferenças estatisticamente significativas estão indicados por números sobrescritos (^{1,2}) diferentes. Valores analisados pelo teste *Two-way-Anova*.

Simulação *in vitro* do trato gastrointestinal de *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 no suco de Cupuaçu

Foi avaliada a sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 9595 no suco de cupuaçu em condições diversas encontradas no trato gastrointestinal (Figura 2). *L. rhamnosus* ATCC 9595 resistiu à ação da lisozima (100 mg/L) quando cultivado no suco de cupuaçu e no caldo MRS (Figura 2A). Foi possível observar, no entanto, uma maior resistência no suco de cupuaçu nos dois tempos analisados ($p < 0,05$). Estes dados foram semelhantes aos reportados para *L. rhamnosus* ATCC 9595 acrescido em suco de bacuri¹². Semelhantemente, *L. rhamnosus* ATCC 9595 resistiu à exposição aos sais biliares (0,5% a 1,0%), obtendo variações semelhantes quando cultivado em MRS ou suco de cupuaçu (Figura 2B).

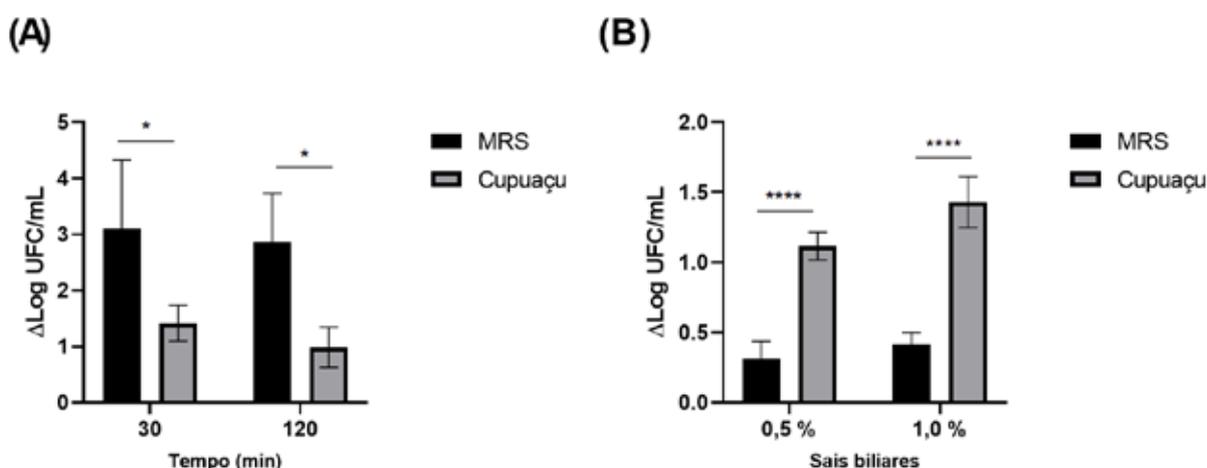


Figura 2 – Teste de tolerância às condições simuladas do trato gastrointestinal. (A) teste de tolerância a lisozima. (B) Teste de tolerância aos sais biliares. * $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$. Valores analisados pelo teste *Two-way-ANOVA*.

Efeito da fermentação nas propriedades antioxidantes e teores de compostos fenólicos e flavonoides do suco de cupuaçu

A capacidade antioxidante do suco de cupuaçu fermentado ou não por *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi avaliada pelos ensaios de DPPH e ABTS (Figura 3). Foi possível observar que as propriedades antioxidantes do suco de cupuaçu aumentaram significativamente devido à fermentação por *L. rhamnosus* ATCC 9595. Na análise comparativa foram observadas diferenças significativas em todas as concentrações no ensaio de DPPH e nas concentrações $\leq 250 \mu\text{g/mL}$ no ensaio ABTS. As amostras de suco fermentado submetidas ao armazenamento apresentaram valores de IC50 semelhantes ao do dia 0, enquanto o extrato não fermentado apresentou variação a partir do dia 21 (Figura 3C).

Os resultados obtidos com a fermentação do suco de cupuaçu pasteurizado corroboram diversos estudos que demonstram a eficácia da fermentação láctica por cepas de *L. rhamnosus* (isoladas ou em cocultura) no incremento das propriedades antioxidantes de sucos de frutas, como suco de laranja fortificado com urtiga²⁶ e suco misto de juçara e manga²⁷.

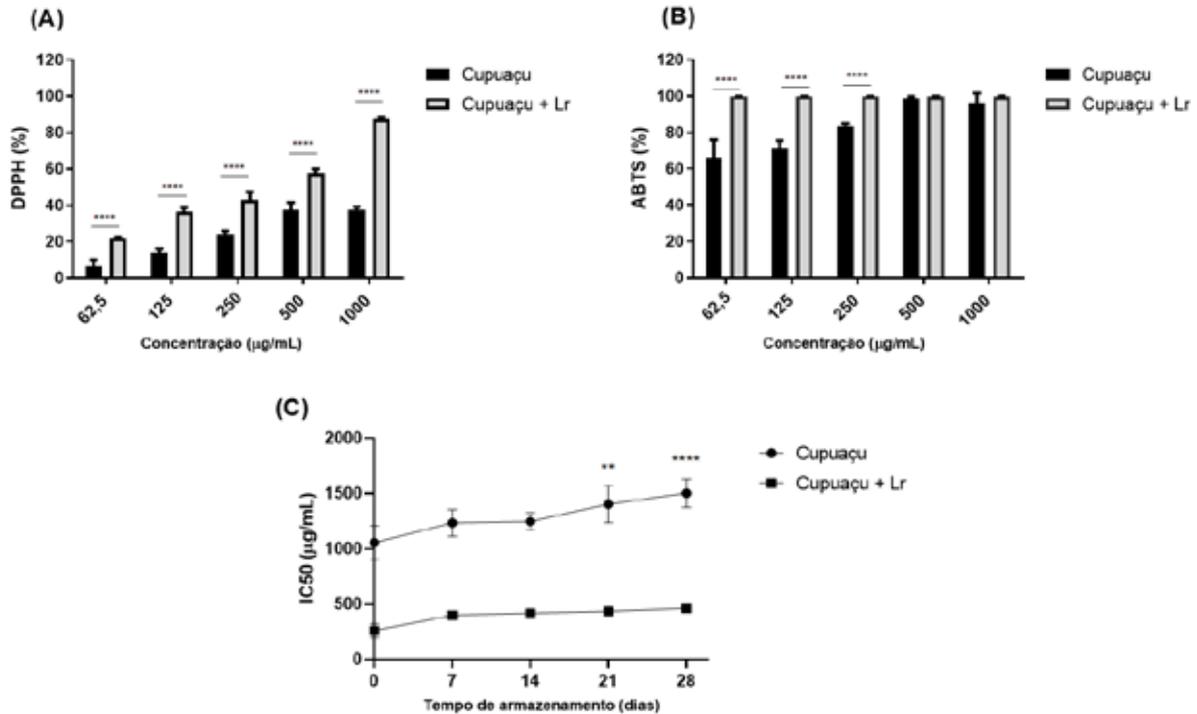


Figura 3 – Avaliação das propriedades antioxidantes dos sucos pasteurizados de *Theobroma grandiflorum*. (A) Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH. (B) Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS; (C) Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH de amostras obtidas durante o armazenamento. IC50= Concentração que inibe 50% do radical; **** p < 0,0001. Valores analisados pelo teste *Two-way-Anova*.

Na Figura 4 estão apresentados os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides das amostras de suco de cupuaçu fermentados ou não por *L. rhamnosus*. Foi observado que a fermentação significativamente aumentou os teores de compostos fenólicos totais (p<0,01), no entanto não foram detectadas alterações no conteúdo de flavonoides.

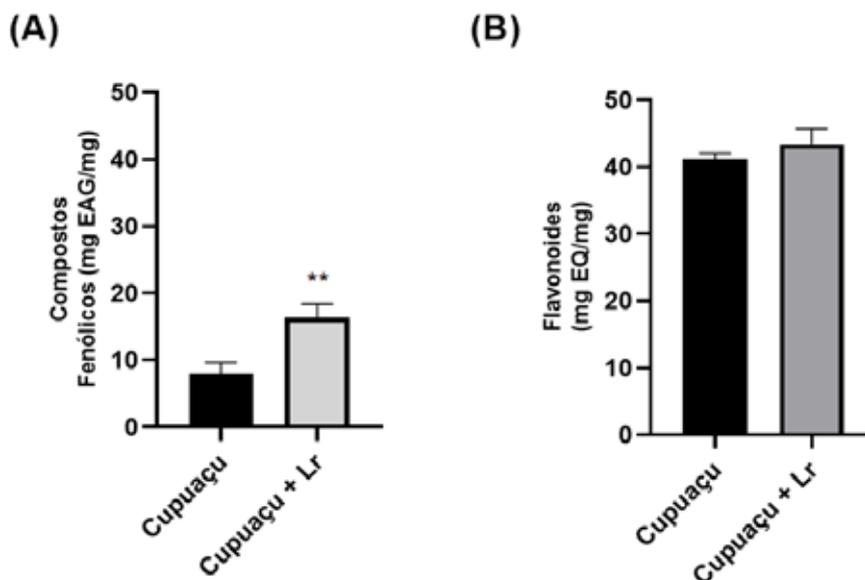


Figura 4 – Dosagem de compostos fenólicos totais (A) e flavonoides (B) dos sucos fermentado e não fermentado de cupuaçu. EAG: Equivalente de ácido gálico; EQ: Equivalente de quercetina. ** p < 0,01. Valores analisados pelo teste t de Student.

Uma dieta rica em compostos fenólicos está relacionada à diminuição do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e diabetes, uma vez que melhora o perfil lipídico, a pressão arterial, a resistência à insulina e a inflamação sistêmica²⁸. Em especial, os flavonoides são abundantes nas frutas, sendo responsáveis pela cor, sabor e cheiro. Devido às suas características antioxidantes e anti-inflamatórias, são importantes na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, diabetes, distúrbios neurológicos e câncer²⁹.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo reafirmam o potencial do suco cupuaçu no desenvolvimento de bebidas probióticas. As amostras de sucos (fermentados ou não fermentados por *L. rhamnosus* ATCC 9595) apresentaram-se segundo as diretrizes brasileiras mesmo após 28 dias de refrigeração. As amostras armazenadas dos dois sucos não apresentaram alterações significativas nos teores de Cinzas, umidade e *B*° nos períodos analisados; no entanto foi detectado aumento nos valores de pH apenas para o suco não fermentado. É importante mencionar que a população de *L. rhamnosus* ATCC 9595 manteve-se estável durante o armazenamento. *L. rhamnosus* ATCC 9595 cultivado no suco de cupuaçu apresentou resistência às condições adversas simuladas pelo trato gastrointestinal. Adicionalmente, a fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 9595 aumentou significativamente as características antioxidantes do suco de cupuaçu, um achado relacionado ao aumento de compostos fenólicos totais.

Neste contexto, sugere-se que a fermentação do suco de cupuaçu por *L. rhamnosus* ATCC 9595 é uma estratégia eficiente para o aumento das propriedades antioxidantes. A bebida elaborada é um produto probiótico livre de lactose, interessante para o mercado vegano e para indivíduos com intolerância e alergia, além de ser um alimento funcional com o potencial de aliviar os danos patológicos induzidos pelos radicais livres.

REFERÊNCIAS

- ¹ Zaric BL, Macvanin MT, Isenovic ER. Free radicals: Relationship to Human Diseases and Potential Therapeutic applications. *Int J biochem cell boil.* 2023;154. DOI:10.1016/J.BIOCEL.2022.106346
- ² Demirci-Çekiç S, Özkan G, Avan AN, Uzunboy S, Çapanoğlu E, Apak R. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *J pharm biomed anal.* 2022;209:114477.
- ³ Sharifi-Rad M, Anil Kumar N v., Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front physiol.* 2020;11:694.
- ⁴ Matzembacher dos Santos J, Gomes Heck T. Oxidative stress in type 2 diabetes and the impact of exercise: from mitochondria to glucose management in skeletal muscle. *Revista contexto & saúde.* 2022;22:e11425-e11425.
- ⁵ Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature reviews.* 2021;20:689.
- ⁶ Giampieri F, Battino M. Bioactive Phytochemicals and Functional Food Ingredients in Fruits and Vegetables. *Int J mol sci.* 2020;21. DOI: 10.3390/IJMS21093278
- ⁷ Punaro GR, Lima DY, Rodrigues AM, Pugliero S, Mouro MG, Rogero MM et al. Cupuaçu extract reduces nitrosative stress and modulates inflammatory mediators in the kidneys of experimental diabetes. *Clinical nutrition.* 2019;38: 364-371.
- ⁸ Rodrigues DBB, Punaro GR, de LIMA DY, Rodrigues AM, Pugliero S, Higa EMS. Cupuaçu extract protects the kidneys of diabetic rats by modulating Nrf2/NF-κB p65 and iNOS. *An acad bras cienc.* 2023;95:e20220927.
- ⁹ Zagnignan A, Mendes YC, Mesquita GP, Santos GDC dos, Silva L dos S, de Souza Sales AC et al. Short-Term Intake of *Theobroma grandiflorum* Juice Fermented with *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 9595 Amended the Outcome of Endotoxemia Induced by Lipopolysaccharide. *Nutrients.* 2023;15. DOI: 10.3390/NU15041059
- ¹⁰ Ribeiro FC, de Barros PP, Rossoni RD, Junqueira JC, Jorge AOC. *Lactobacillus rhamnosus* inhibits *Candida albicans* virulence factors in vitro and modulates immune system in *Galleria mellonella*. *J appl microbial.* 2017;122:201-211.

- ¹¹ Mendi A, Köse S, Uçkan D, Akca G, Yılmaz D, Aral L et al. Lactobacillus rhamnosus could inhibit Porphyromonas gingivalis derived CXCL8 attenuation. Journal of applied oral science. 2016;24:67-75.
- ¹² Mendes YC, Mesquita GP, Costa GDE, Barbosa da Silva AC, Gouveia E, Silva MRC et al. Evaluation of Growth, Viability, Lactic Acid Production and Anti-Infective Effects of Lacticaseibacillus rhamnosus ATCC 9595 in Bacuri Juice (*Platonia insignis*). Foods. 2021;10:603.
- ¹³ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019. DOU – Imprensa Nacional. 2019. [acesso 17 ago. 2023]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>
- ¹⁴ Zenebon O, Pascuet NS. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 2005;1.018-1.018.
- ¹⁵ Silva B, Jung LRC, Sandes SHC, Alvim LB, Bomfim MRQ, Nicoli JR et al. In vitro assessment of functional properties of lactic acid bacteria isolated from faecal microbiota of healthy dogs for potential use as probiotics. Benef microbes. 2013.
- ¹⁶ Silva TF, Cavalcanti Filho JRN, Fonsêca MMLB, Santos NM dos, Silva ACB da, Zigmignan A et al. Products Derived from Buchenavia tetraphylla Leaves Have In Vitro Antioxidant Activity and Protect Tenebrio molitor Larvae against Escherichia coli-Induced Injury. Pharmaceuticals. 2020;13:46.
- ¹⁷ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 241, de 26 de julho de 2018. 2018. [acesso 17 ago. 2023]. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/378665>
- ¹⁸ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos. 2021. [acesso 17 ago. 2023]. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/guias#/visualizar/448269>
- ¹⁹ Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: IX lista de alegações de propriedade funcional aprovada, atualizado em julho/2008. 2008.
- ²⁰ Ruiz Rodríguez LG, Zamora Gasga VM, Pescuma M, Van Nieuwenhove C, Mozzi F, Sánchez Burgos JA. Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. Food research international. 2021;140:109854.
- ²¹ Naseem Z, Mir SA, Wani SM, Rouf MA, Bashir I, Zehra A. Probiotic-fortified fruit juices: Health benefits, challenges, and future perspective. Nutrition. 2023;115. DOI: 10.1016/J.NUT.2023.112154
- ²² Maia MS, Domingos MM, de São José JFB. Viability of Probiotic Microorganisms and the Effect of Their Addition to Fruit and Vegetable Juices. Microorganisms. 2023;11. DOI: 10.3390/MICROORGANISMS11051335
- ²³ Dahiya D, Nigam PS. Nutrition and Health through the Use of Probiotic Strains in Fermentation to Produce Non-Dairy Functional Beverage Products Supporting Gut Microbiota. Foods. 2022;11. DOI: 10.3390/FOODS11182760
- ²⁴ Schneider E, Doll JPK, Schweinfurth N, Kettelhack C, Schaub AC, Yamanbaeva G et al. Effect of short-term, high-dose probiotic supplementation on cognition, related brain functions and BDNF in patients with depression: a secondary analysis of a randomized controlled trial. J psychiatry neurosci. 2023;48:E23-E33.
- ²⁵ Gutiérrez-Castrellón P, Gandara-Martí T, Abreu Y Abreu AT, Nieto-Rufino CD, López-Orduña E, Jiménez-Escobar I et al. Probiotic improves symptomatic and viral clearance in Covid19 outpatients: a randomized, quadruple-blinded, placebo-controlled trial. Gut microbes. 2022;14. DOI: 10.1080/19490976.2021.2018899
- ²⁶ Sengun IY, Kirmizigul A, Atlama K, Yılmaz B. The viability of Lactobacillus rhamnosus in orange juice fortified with nettle (*Urtica dioica* L.) and bioactive properties of the juice during storage. LWT. 2020;118:108707.
- ²⁷ Prates FC, de Castro Leite Júnior BR, Martins EMF, Cristianini M, da Silva RR, da Rocha Campos AN et al. Development of a mixed jussara and mango juice with added Lactobacillus rhamnosus GG submitted to sub-lethal acid and baric stresses. J food sci technol. 2020;57:4.524-4.532.
- ²⁸ Rana A, Samtiya M, Dhewa T, Mishra V, Aluko RE. Health benefits of polyphenols: A concise review. J food biochem. 2022;46. DOI: 10.1111/JFBC.14264
- ²⁹ Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS, Giovinazzo G, Gerardi C, Mosca L. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. Molecules. 2021;26:5.377.

Submetido em: 21/8/2023

Aceito em: 25/3/2024

Publicado em: 6/5/2024

Contribuições dos autores

Daniel dos Santos Guimarães – Metodologia, validação de dados e experimento e Design da apresentação de dados, Redação do manuscrito original.

Camila Caetano da Silva – Metodologia, validação de dados e experimento, Design da apresentação de dados, Redação do manuscrito original.

Kátia Sayuri Aragão Aguiar – Metodologia, validação de dados e experimento.

Alexia Figueiredo Ferreira – Metodologia, validação de dados e experimento.

Marcos Andrade Silva – Metodologia.

Luís Cláudio Nascimento da Silva – Conceituação, Análise formal, Obtenção de financiamento, Administração do projeto, Supervisão e redação do manuscrito original.

Adrielle Zigmignan – Conceituação, Análise formal, Obtenção de financiamento, Administração do projeto, Supervisão e redação do manuscrito original.

Todos os autores aprovaram a versão final do texto.

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (Processo: Universal 00881/19, POS-GRAD-02460/21, INFRA-02032/21) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo: 312349/2020-3)

Autor correspondente

Adrielle Zigmignan

Universidade Ceuma

Rua Anapurus, n.1, Renascença II, São Luís/MA, Brasil – CEP: 65075-120

adrielle004602@ceuma.com.br

Editor: Dr. Matias Nunes Frizzo

Editora chefe: Dra. Adriane Cristina Bernat Kolankiewicz

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença Creative Commons.