



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde



Mestrado

ALEANIA POLASSA ALMEIDA PEREIRA

**POTENCIAL PREBIÓTICO DE FIBRAS SOLÚVEIS
ISOLADAS DE SEMENTES DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril*
L.)**

São Luís
2024

ALEANIA POLASSA ALMEIDA PEREIRA

**POTENCIAL PREBIÓTICO DE FIBRAS SOLÚVEIS
ISOLADAS DE SEMENTES DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril*
L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Prof. Dr. Valério Monteiro Neto

São Luís
2024

**POTENCIAL PREBIÓTICO DE FIBRAS SOLÚVEIS
ISOLADAS DE SEMENTES DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril*
L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovado em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valério Monteiro Neto (Orientador) – Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Irla Correia Lima Licá Fonseca – Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Paulo Vitor Soeiro Pereira – Universidade Federal do Maranhão

Dedico a meu marido, Nazario Neto, a minha mãe, Evania Almeida e aos meus avós, José de Ribamar Pereira e Maria Raimunda Alencar.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. Microbiota Intestinal Humana (MIH)	14
2.1.1. Barreira intestinal e sistema imunológico	16
2.1.2. Eubiose e Disbiose	18
2.2. Fibras Alimentares	19
2.3. Probióticos, Prebióticos, Simbióticos e MIH	20
2.4. <i>Hymenaea courbaril</i> L. (Jatobá)	23
3. OBJETIVOS	25
3.1. Geral	25
3.2. Específicos	25
4. MATERIAS E MÉTODOS	26
4.1. Seleção das plantas	26
4.2. Análise Centesimal da semente de Jatobá realizada conforme descrito por Adolfo Lutz (2008)	26
4.2.1. Determinação de Umidade	26
4.2.2. Determinação de Cinzas	26
4.2.3. Determinação de Lipídeos	26
4.2.4. Determinação de Proteínas	27
4.2.5. Determinação de Carboidratos	27
4.3. Determinação de fibras totais e extração de polissacarídeos e oligossacarídeos	27
4.3.1. Composição monossacarídica	28
4.4. Ensaio de tolerância pelo suco gástrico humano simulado	29
4.5. Potencial prebiótico <i>in vitro</i>	29
4.6. Pesquisa de lactato e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por cromatografia acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)	30
4.7. Análise do crescimento de bactérias patogênicas em resposta aos carboidratos extraídos	31
5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	32
6. RESULTADOS PARCIAIS	33
6.1. Análise centesimal com ênfase em carboidratos	33
6.2. Ensaio de tolerância pelo SGHS	33
6.3. Análise do estímulo ao crescimento probiótico <i>in vitro</i>	36

6.4. Os carboidratos extraídos não funcionam como fonte de carbono para bactérias patogênicas.....	36
7. DISCUSSÃO.....	42
8. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA DE ABREVIACOES

AGCC	ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CG-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
DII	Doença Inflamatória Intestinal
FOS	Fruto-oligossacarídeo
GABA	cido gama-amino-butírico
GLU	Glicose
IgA	Imunoglobulina A
IgAs	Imunoglobulina A secretora
IL	Interleucina
ISAAP	<i>International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics</i>
ISC	Células-tronco intestinais
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MIH	Microbiota intestinal humana
MUC	Mucina
OMS	Organizao Mundial da Saúde
SGHS	Suco gástrico humano simulado
SJO	Semente de Jatobá (extrao de oligossacarídeos)
SJP	Semente de Jatobá (extrao de polissacarídeos)
SNC	Sistema Nervoso Central
SNE	Sistema nervoso entérico
TEA	Transtorno espectro autista
TGI	Trato Gastrointestinal
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral- α
Tregs	Células T reguladoras

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da composição centesimal presentes nas sementes de jatobá (<i>H. courbaril</i> L.)	32
Tabela 2. Resultado da determinação de carboidratos da semente de jatobá (<i>H. courbaril</i> L.).....	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema cronológico da microbiota associada ancestralmente ao <i>Homo sapiens</i>	16
Figura 2. Estrutura química do xiloglucano e os monossacarídeos que os constituem	19
Figura 3. Estrutura química da galactomana e os monossacarídeos que os constituem	19
Figura 4. Mecanismos de ação dos prebióticos	22
Figura 5. Semente de Jatobá	23
Figura 6. Taxa de hidrólise (%) no SGHS da SJP e SJO em comparação ao FOS.....	34
Figura 7. Percentual de crescimento de <i>Bifidobacterium animalis subs. lactis</i> HN019 em SJP e SJO.....	36
Figura 8. Percentual de crescimento de <i>Limosilactobacillus fermentum</i> ATCC 23271 em SJP e SJO.....	37
Figura 9. Percentual de crescimento de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> ATCC 9595 em SJP e SJO.....	38
Figura 10. Percentual de crescimento de <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103 em SJP e SJO.....	39
Figura 11. Análise do crescimento de bactérias patogênicas pelos carboidratos extraídos.....	40

RESUMO

Uma microbiota intestinal saudável é caracterizada por uma comunidade diversificada e equilibrada de microrganismos que exercem efeitos benéficos ao nosso organismo, incluindo-se as diferentes espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, as quais são capazes de contribuir para a homeostase do ecossistema intestinal e conferir impactos positivos à saúde do hospedeiro. Logo, os prebióticos são fibras solúveis não digeríveis, geralmente de natureza polissacarídica e oligossacarídica, que modulam a microbiota intestinal normal no sentido de estimular a multiplicação de microrganismos benéficos. Entre os impactos positivos resultantes dessa estimulação estão os seguintes: colonização seletiva de bactérias benéficas com possibilidade de exclusão de patógenos no trato intestinal, a modulação da resposta imune e a produção de lactato e de ácidos graxos de cadeia curta. As sementes da espécie *Hymenaea courbaril* L., conhecida popularmente como Jatobá, apresentam em sua composição fibras solúveis de natureza polissacarídica como xiloglucanos e galactomananas. No entanto, não há confirmações na literatura do potencial prebiótico dessas fibras solúveis presentes na semente do Jatobá. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial prebiótico de fibras solúveis isoladas de sementes do Jatobá (*H. courbaril* L.). Para isso, as sementes foram coletadas em Santo Amaro-MA, catalogadas pelo herbário do Maranhão e transportadas ao Laboratório de Bromatologia e Microbiologia de Alimentos. Em seguida, o material obtido foi utilizado para a realização da análise centesimal com ênfase em carboidratos, extração/determinação de fibras, composição monossacarídica, ensaio de tolerância ao suco gástrico humano simulado (SGHS), potencial prebiótico *in vitro*, análise do crescimento de bactérias patogênicas pelos carboidratos extraídos e pesquisa de lactato e ácidos graxos de cadeia curta. Os resultados obtidos na análise centesimal com ênfase em carboidratos, demonstraram que as sementes de Jatobá apresentam alto teor de carboidratos (35,93%), com destaque para fibras solúveis (29,02%). Entre as fibras solúveis a predominância foi de polissacarídeos – SJP (24,33%), enquanto apenas 5% foram representadas por oligossacarídeos - SJO. Em relação ao SGHS, as taxas de hidrólise em pH 1, nos intervalos de tempo entre 30 minutos e 6 horas, variaram de 22,44% a 51,02% para os SJP. Já para a fração de SJO, as taxas de hidrólise oscilaram entre 21,95% e 53,65%. Esses dados indicam que tanto o SJP quanto o SJO apresentam resistência à acidez gástrica, uma vez que os graus de hidrólise ficaram abaixo de 55% em condições de pH ácido. No teste *in vitro*, os SJP e SJO, estimularam o crescimento de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, como fontes principais de carbono. Ao comparar o crescimento dos probióticos nas diferentes extrações, observou-se que o maior estímulo ocorreu em SJP, apresentando resultados semelhantes tanto no meio com glicose (controle positivo) quanto no meio com FOS (controle prebiótico). Os SJP e SJO, utilizados como fonte principal de carbono, não estimularam o crescimento das bactérias patogênicas testadas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Em conclusão, tais achados sugerem que as fibras solúveis presentes nas sementes do Jatobá possuem potencial como novos ingredientes prebióticos.

Palavras Chaves: Polissacarídeos; Oligossacarídeos; Prebióticos; Probióticos; Microbiota.

ABSTRACT

A healthy intestinal microbiota is characterized by a diverse and balanced community of microorganisms that exert beneficial effects on our body, including different species of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, which are capable of contributing to the homeostasis of the intestinal ecosystem and providing positive impacts to the health of the host. Therefore, prebiotics are non-digestible soluble fibers, generally of a polysaccharide and oligosaccharide nature, which modulate the normal intestinal microbiota in order to stimulate the multiplication of beneficial microorganisms. Among the positive impacts resulting from this stimulation are the following: selective colonization of beneficial bacteria with the possibility of excluding pathogens in the intestinal tract, modulation of the immune response and the production of lactate and short-chain fatty acids. *Hymenaea courbaril* L., known as Jatobá, contains soluble polysaccharides such as xyloglucans and galactomannans. However, there is no confirmation in the literature of the prebiotic potential of the soluble fibers present in Jatobá seeds. In this sense, the present study aimed to investigate the prebiotic potential of soluble fibers isolated from Jatobá seeds (*H. courbaril* L.). For this, the seeds were collected in Santo Amaro-MA, cataloged by the Maranhão herbarium and transported to the Laboratory of Bromatology and Food Microbiology. Then, the material obtained was used to perform the centesimal analysis with emphasis on carbohydrates, extraction/determination of fibers, monosaccharide composition, simulated human gastric juice tolerance test (SGHS), in vitro prebiotic potential, analysis of the growth of pathogenic bacteria by the extracted carbohydrates and research of lactate and short-chain fatty acids. The results obtained in the centesimal analysis with emphasis on carbohydrates demonstrated that Jatobá seeds have high carbohydrate contents (35.93%), with emphasis on soluble fibers (29.02%). Among the soluble fibers, the predominance was of polysaccharides - SJP (24.33%), while only 5% were represented by oligosaccharides - SJO. Regarding SGHS, the hydrolysis rates at pH 1, in the time intervals between 30 minutes and 6 hours, varied from 22.44% to 51.02% for SJP. For the SJO fraction, the hydrolysis rates ranged from 21.95% to 53.65%. These data indicate that both SJP and SJO are resistant to gastric acidity, since the degrees of hydrolysis were below 55% under acidic pH conditions. In the in vitro test, SJP and SJO stimulated the growth of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, as the main carbon sources. When comparing the growth of probiotics in the different extractions, it was observed that the greatest stimulation occurred in SJP, presenting similar results both in the medium with glucose (positive control) and in the medium with FOS (prebiotic control). SJP and SJO, used as the main carbon source, did not stimulate the growth of the pathogenic bacteria tested, such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. In conclusion, these findings suggest that the soluble fibers present in Jatobá seeds have potential as new prebiotic ingredients.

Keywords: Polysaccharides; Oligosaccharides; Prebiotics; Probiotics, Microbiota.

