

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ANGÉLICA PEREIRA TODESCATO

**MAROLO (*Annona crassiflora*): BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
BIOATIVOS COM POTENCIAL À LONGEVIDADE HUMANA**

Alfenas/MG

2022

ANGÉLICA PEREIRA TODESCATO

**MAROLO (*Annona crassiflora*): BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS
BIOATIVOS COM POTENCIAL À LONGEVIDADE HUMANA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade, pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Alimentos e Longevidade.

Orientador: Bruno Martins Dala Paula
Co-orientadora: Maria Beatriz Abreu Glória

Alfenas/MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Todescato, Angélica Pereira .

Marolo (*Annona crassiflora*): Bioacessibilidade de compostos bioativos com potencial à longevidade humana / Angélica Pereira Todescato. - Alfenas, MG, 2022.

82 f. : il. -

Orientador(a): Bruno Martins Dala Paula.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Longevidade) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Alimento Funcional. 2. Poliaminas. 3. Espermidina. 4. Antioxidantes. 5. Técnicas in vitro. I. Dala Paula, Bruno Martins , orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com os dados fornecidos pelo autor.

ANGÉLICA PEREIRA TODESCATO

MAROLO (*Annona crassiflora*): BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS COM POTENCIAL À LONGEVIDADE HUMANA

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Alimentos e Longevidade.

Aprovada em: 25 de novembro de 2022

Prof. Dr. Bruno Martins Dala Paula
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Flávia Beatriz Custódio
Instituição: Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. Patrícia Amaral Souza Tette
Instituição: Universidade Federal de Goiás



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Martins Dala Paula, Professor do Magistério Superior**, em 25/11/2022, às 16:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **PATRICIA AMARAL SOUZA TETTE, Usuário Externo**, em 25/11/2022, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flávia Beatriz Custódio, Usuário Externo**, em 25/11/2022, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0868942** e o código CRC **B19C2C23**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, por ser todo o meu sustento.

Agradeço a minha família pelo companheirismo e sempre acreditar no meu potencial.

Agradeço ao meu orientador prof. Bruno pela dedicação, paciência e conhecimento transmitido durante todo o trabalho. Foi o melhor orientador que eu poderia ter.

Agradeço aos professores que fizeram parte da construção do meu aprendizado ao longo do curso.

À Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade de crescimento profissional e espaço cedido para a execução desse trabalho.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio por meio da bolsa de estudos e apoio em pesquisa, por meio do Edital 001/2018 – Demanda Universal, processo número APQ-00424-18.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de financiamento 001.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, aos meus filhos, ao meu esposo, ao meu irmão, à minha mãe e ao meu pai que durante essa jornada acadêmica nos deixou.

RESUMO

O marolo (*Annona crassiflora*) é uma fruta típica do Cerrado brasileiro, fonte de diferentes compostos bioativos. Estudos recentes demonstraram relação direta das poliaminas, em especial da espermidina, com a longevidade humana. Este trabalho teve como objetivo determinar a bioacessibilidade de compostos bioativos na polpa de marolo com potencial à longevidade humana. Os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e potencial antioxidante foram determinados por métodos espectrofotométricos. Dez aminas bioativas foram investigadas por cromatografia líquida de alta eficiência por pareamento iônico de fase reversa, sendo elas: putrescina, cadaverina, agmatina, espermidina, espermina, 2-feniletilamina, serotonina, triptamina, histamina e tiramina. A bioacessibilidade foi realizada seguindo o protocolo INFOGEST. A polpa do marolo apresentou 66,15 $\mu\text{mol ET/g}$ para potencial antioxidante (ABTS) e 65,94 $\mu\text{mol ET/g}$ (DPPH), 9,16 mg EAG/g para fenólicos totais, 7,26 mg EC/g para flavonoides totais. Os índices do potencial antioxidante após a digestão *in vitro* pelos métodos de ABTS e DPPH foram de 35,3% e 47,6%, respectivamente. Os índices de bioacessibilidade foram de 21,8%, e 17,6% para fenólicos e flavonoide totais. Apenas putrescina, espermidina e tiramina foram detectadas na polpa do marolo, com teores de 20,65, 6,32 e 31,96 mg/kg e índice de bioacessibilidade de 59,4%, 36,8% e 89,6%, respectivamente. Essa pesquisa contribui com informações inéditas acerca da bioacessibilidade de compostos bioativos da polpa do marolo, caracterizada por baixa bioacessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais; moderada de putrescina e espermidina e elevada de tiramina. O ensaio ABTS sobre o efeito da digestão no potencial antioxidante foi igual para as fases gástrica e intestinal; enquanto para DPPH, o teor de antioxidantes na fase intestinal foi maior que na fase gástrica. Sugere-se a realização de pesquisas futuras para avaliar o efeito de diferentes processamentos da polpa de marolo na bioacessibilidade de compostos bioativos e em seu potencial antioxidante.

Palavras-chave: alimento funcional; poliaminas; espermidina; antioxidantes; técnicas *in vitro*.

ABSTRACT

Marolo (*Annona crassiflora*) is a typical fruit from the Brazilian Cerrado, a source of different bioactive compounds. Recent studies have shown a direct relationship between polyamines, especially spermidine, and human longevity. This work aimed to determine the bioaccessibility of bioactive compounds in marolo pulp with potential for human longevity. The contents of total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant potential were determined by spectrophotometric methods. Ten bioactive amines were investigated by high performance liquid chromatography by reverse phase ion pairing, namely: putrescine, cadaverine, agmatine, spermidine, spermine, 2-phenylethylamine, serotonin, tryptamine, histamine and tyramine. Bioaccessibility was performed following the INFOGEST protocol. The marolo pulp showed 66.15 $\mu\text{mol ET/g}$ for antioxidant potential (ABTS) and 65.94 $\mu\text{mol ET/g}$ (DPPH), 9.16 mg EAG/g for total phenolics, 7.26 mg EC/g for flavonoids totals. The indices of antioxidant potential after *in vitro* digestion by the ABTS and DPPH methods were 35.3% and 47.6%, respectively. Bioaccessibility indexes were 21.8%, and 17.6% for total phenolics and flavonoids. Only putrescine, spermidine and tyramine were detected in marolo pulp, with contents of 20.65, 6.32 and 31.96 mg/kg and bioaccessibility index of 59.4%, 36.8% and 89.6%, respectively. This research contributes with unprecedented information about the bioaccessibility of bioactive compounds from marolo pulp, characterized by low bioaccessibility of phenolic compounds and total flavonoids; moderate levels of putrescine and spermidine and high levels of tyramine. The ABTS assay on the effect of digestion on antioxidant potential was the same for the gastric and intestinal phases; while for DPPH, the antioxidant content in the intestinal phase was higher than in the gastric phase. It is suggested that future research be carried out to evaluate the effect of different processing of marolo pulp on the bioaccessibility of bioactive compounds and on their antioxidant potential.

Keywords: functional food; polyamines; spermidine; antioxidants; *in vitro* techniques.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	OBJETIVOS.....	11
1.1.1	Objetivo geral.....	12
1.1.2	Objetivos específicos.....	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	DIMENSÕES DO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO.....	13
2.2	FRUTAS DO CERRADO.....	17
2.3	MAROLO (<i>Annona crassiflora</i>): CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS.....	18
2.4	COMPOSTOS FENÓLICOS NA POLPA DO MAROLO E SUAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	22
3	AMINAS BIOATIVAS.....	25
3.1	POLIAMINAS.....	27
3.1.1	Definição Química e Classificação.....	27
3.1.2	Síntese.....	28
3.1.3	Bioatividade.....	31
3.2	ESPERMIDINA E LONGEVIDADE.....	32
3.3	TIRAMINA E SAÚDE.....	36
3.4	BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS <i>IN VITRO</i>	37
3.5	BIOACESSIBILIDADE DE AMINAS BIOATIVAS.....	38
3.6	BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E EFEITO DA DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> NO POTENCIAL ANTIOXIDANTE.....	39
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
4.1	AMOSTRAS.....	43
4.2	REAGENTES, SOLVENTES E ENZIMAS.....	44
4.3	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH).....	44
4.4	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE.....	45
4.5	DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL.....	45
4.6	DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS.....	46
4.7	DETERMINAÇÃO DE COR DA POLPA.....	46
4.8	PREPARO DO EXTRATO PARA AS DETERMINAÇÕES DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE, DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES	

	TOTAIS.....	46
4.9	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS•+.....	47
4.10	DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH•.....	48
4.11	DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	48
4.12	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS	48
4.13	DETERMINAÇÃO DE AMINAS BIOATIVAS.....	49
4.14	ENSAIO DE BIOACESSIBILIDADE	50
4.15	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA.....	54
5.1.1	Potencial hidrogeniônico (pH).....	54
5.1.2	Teor de umidade.....	54
5.1.3	Acidez titulável.....	54
5.1.4	Sólidos solúveis.....	55
5.1.5	Razão sólidos solúveis/acidez titulável.....	55
5.1.6	Cor.....	56
5.2	POTENCIAL ANTIOXIDANTE, FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS NA POLPA DO MAROLO.....	56
5.3	AMINAS BIOATIVAS NA POLPA DE MAROLO.....	59
5.4	EFEITO DA DIGESTÃO NO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS NA POLPA DO MAROLO.....	61
5.4.1	Efeito da digestão <i>in vitro</i> nos compostos fenólicos e potencial antioxidante.....	61
5.4.2	Bioaccessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais na polpa de marolo.....	63
5.5	BIOACESSIBILIDADE DE AMINAS NA POLPA DO MAROLO.....	65
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
	REFERÊNCIAS.....	70

1 INTRODUÇÃO

Do ponto de vista biológico, o envelhecimento acompanha um processo de declínio progressivo das funções estruturais, funcionais e químicas das células. A senescência celular abrange as alterações caracterizadas pelas mudanças na morfologia celular; parada irreversível da proliferação; resistência à apoptose; alterações epigenéticas e secreção de mediadores (citocinas, quimiocinas e metaloproteinases) que promovem inflamação e dano tecidual, conhecido como fenótipo secretor associado a senescência - do inglês *Senescence Associated Secretory Phenotype* - SASP (LIU *et al.*, 2019). Com o avanço da idade, aumenta a suscetibilidade para muitas doenças, tais como as crônicas não transmissíveis: diabetes, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, câncer e hipertensão (LI *et al.*, 2021). As doenças cardiovasculares representam aproximadamente 31% de todas as mortes globais e a hipertensão é responsável por cerca de 50% desses casos (KUMAR; YIN, 2018).

O consumo de alimentos funcionais é responsável pela promoção da saúde e diminuição do risco de doenças crônicas não transmissíveis. Tendo em vista esse fator, existem evidências dos efeitos promotores da longevidade humana associados ao consumo de uma dieta rica em poliaminas (ADEFEGHA, 2018; DHALARIA *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2021; MADEO *et al.*, 2018). As poliaminas são compostos orgânicos, policatiônicos em pH fisiológico ou da maioria dos alimentos e que apresentam mais de dois grupamentos amina em suas moléculas, a exemplo da espermidina e espermina, com três e quatro grupamentos, respectivamente. Essas poliaminas desempenham funções no crescimento e manutenção celular, sendo encontradas em uma variedade de alimentos, com destaque em algumas frutas e vegetais (DALA-PAULA *et al.*, 2021b). Sendo relatado na literatura o efeito cardio e neuroprotetor da espermidina (MADEO *et al.*, 2018).

Arruda, Pereira e Pastore (2018a) relataram que o Brasil possui uma das mais ricas biodiversidades do mundo, que inclui grande número de espécies frutíferas. No entanto, muitas frutas nativas são pouco exploradas ou desconhecidas. As frutas do Cerrado têm atraído a atenção de consumidores e pesquisadores por suas propriedades nutricionais e funcionais que podem ser aliadas ao potencial de agregar valor e preservar a biodiversidade desse bioma. Dentre as espécies nativas brasileiras, o marolo (*Annona crassiflora*) tem se destacado pelo perfil de

substâncias com potencial para a longevidade humana (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2018a; DALA-PAULA *et al.*, 2019). O consumo de frutas, ricas em compostos bioativos contribui com a redução de danos celulares, além de estar relacionado com a menor incidência e mortalidade por câncer, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. A proteção oferecida pelas frutas ao organismo humano está associada principalmente à presença de compostos bioativos com propriedades antioxidantes (VAN BREDA; KOK, 2018).

Existem poucas informações sobre a bioacessibilidade de fenólicos e flavonoides na fruta. A pesquisa destaca-se pelo resultado inédito acerca da detecção e bioacessibilidade de aminas no marolo. Essas informações servem para caracterizar os compostos bioativos em frutas do Cerrado e para apresentar as potencialidades à longevidade humana. Com base no exposto, este trabalho teve por objetivo determinar a bioacessibilidade desses compostos na polpa e o impacto da digestão *in vitro* sob o seu potencial antioxidante.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Determinar os efeitos funcionais, os teores e o índice de bioacessibilidade (IB) de compostos bioativos na polpa do marolo.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Realizar a caracterização físico-química da polpa da fruta por meio de pH, umidade, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e *ratio* (SS/ AT);
- b) Determinar o potencial antioxidante, fenólicos e flavonoides totais na polpa de marolo;
- c) Determinar os teores de dez aminas bioativas – putrescina, cadaverina, agmatina, espermidina, espermina, 2-feniletilamina, serotonina, triptamina, histamina e tiramina – na polpa de marolo;
- d) Determinar o efeito da digestão simulada *in vitro* no potencial antioxidante, fenólicos, flavonoides totais e aminas bioativas encontradas na polpa de marolo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DIMENSÕES DO PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Beard *et al.* (2016) atribuem as tendências de envelhecimento da população à interação de diversos fatores demográficos e socioeconômicos que permitiram a diminuição da mortalidade infantil e o aumento da expectativa de vida. Este é o resultado das melhorias na renda, nutrição, educação, higiene, terapia médica e cuidados gerais de saúde (EKMEKCIOGLU, 2019). Além do ambiente e estilo de vida, o envelhecimento é influenciado por fatores genéticos. Por ser um fenômeno multifatorial (CAMPISI *et al.*, 2019; CHMIELEWSKI, 2020; DÖNERTAŞ *et al.*, 2019), cada indivíduo responde intrinsecamente ao fenômeno de envelhecer, resultante da complexa interação de fatores biológicos, sociais, ambientais e psicológicos. Dessa forma, em nível biológico, o equilíbrio homeostático de cada indivíduo é afetado de formas específicas (MICHEL; SADANA, 2017).

Com o prolongamento da vida e redução da população jovem devido à diminuição da natalidade, a população mundial idosa vem crescendo mais rapidamente do que os outros grupos etários, aumentando a diferença quantitativa entre crianças e idosos. Assim, uma em cada cinco pessoas terá 60 anos ou mais em 2050. A previsão é que os idosos representarão 22% da população mundial e 80% estarão concentrados nos países em desenvolvimento (WHO, 2021).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) - *World Health Organization* (WHO, 2015) - o conceito de idoso diferencia conforme a localização geográfica. Nos países em desenvolvimento, é considerado idoso o indivíduo com idade igual ou superior a 60 anos e a partir dos 65 anos em países desenvolvidos. Essa definição foi estabelecida pela Organização das Nações Unidas (ONU), por meio da Resolução 39/125, durante a primeira assembleia mundial das Nações Unidas sobre o envelhecimento da população, relacionando-se com a expectativa de vida ao nascer e com a qualidade de vida que as nações propiciam aos seus cidadãos (ONU, 1982). Ainda existem discrepâncias quanto à idade em que uma sociedade considera o início da fase idosa (WHO, 2015).

Habitualmente, o fenômeno do envelhecimento é analisado sob duas grandes perspectivas: o demográfico e o individual. O envelhecimento demográfico resulta do aumento da proporção das pessoas idosas na população total e ocorre devido ao

efeito conjunto de três fatores: queda da fecundidade, queda da mortalidade e aumento da esperança de vida. Esta realidade produz consequências diversas em múltiplas dimensões da vida pessoal e da sociedade. No plano econômico, verifica-se um acréscimo de despesas resultantes do aumento da população dependente e da redução da população produtiva. No plano social se percebe uma diminuição da mobilidade social, das alterações das relações profissionais e familiares e à necessidade de adaptação dos sistemas de proteção. Do ponto de vista dos cuidados de saúde, aumenta a necessidade de recursos e de cuidados, resultantes do acréscimo da população dependente e doente (FERREIRA; RODRIGUES; NOGUEIRA, 2006; MALWADE *et al.*, 2018).

Conforme salienta Enguerran, Chevé e Montepare (2019), o fenômeno do envelhecimento demográfico apresenta-se com ritmos de evolução variáveis nos países, ou nas regiões do mundo, existindo também perspectivas, ao nível social e político, sobre o que é ser velho e sobre o tipo de recursos a mobilizar para responder aos desafios. Já o envelhecimento individual é afetado pela herança biológica e pelo comportamento de cada um, mas também por fatores de natureza social, ambiental, econômica e política (COLCHERO *et al.*, 2019; FERNANDES, 2014).

Solis (2021) afirma que a idade cronológica é amplamente adotada para entender o envelhecimento, sendo a demografia um parâmetro que torna possível a comparação entre as características do envelhecimento de diversas populações. Entretanto, Sebastiani *et al.* (2017) argumentam que a idade cronológica não é um marcador suficiente do estado funcional de um indivíduo, visto que as pessoas podem envelhecer de maneiras diferentes uma das outras. Verifica-se, no entanto, que outros fatores, incluindo a variação biológica dos indivíduos contribuem expressivamente no processo de envelhecimento (GUYTON; HALL, 2017).

Verificou-se, conforme destacado por Dias (1998), que existem algumas diferenciações em torno desses conceitos, visto que o envelhecimento é percebido como processo, enquanto a velhice é uma fase da vida, e que a pessoa idosa é o sujeito social que vivencia esse ciclo. O processo de envelhecimento é, na grande maioria das vezes, visto como uma mudança constante e dinâmica, acarretando transformações psicológicas, funcionais, morfológicas e bioquímicas.

Mori (2020) caracteriza o envelhecimento como um fenômeno inevitável. Ao conceituar o que é o envelhecimento, Melzer *et al.* (2020) o descrevem como sendo

um processo biológico relacionado com o declínio progressivo da integridade celular devido à passagem do tempo. Almeida (2014) o traduz como declínio funcional e afirma que o envelhecimento dos organismos é intrínseco, universal, progressivo e irreversível. Intrínseco por ser uma condição inerente ao organismo; universal considerando que em cada espécie, todos os indivíduos envelhecem, embora em ritmos diferenciados; progressivo e irreversível refere-se ao sentido da perda funcional, que quando ocorre não permite retorno ao estado anterior ou condição inicial.

Cozzolino e Cominetti (2013) ainda definem dois tipos de envelhecimento: o primário e o secundário. No envelhecimento primário, também conhecido como senescência, ocorre a perda lenta e gradual das funções fisiológicas, independente do ambiente. É um processo irreversível, inevitável e natural. Já o envelhecimento secundário, ou senilidade, ocorre quando há a perda adicional das funções fisiológicas, a qual depende do ambiente e está fortemente relacionada aos hábitos e ao estilo de vida do indivíduo. A senilidade pode estar relacionada a alguma doença e é um processo que pode ser evitado ou, pelo menos, atenuado.

O processo de transformação do organismo em decorrência do envelhecimento é de natureza interacional, inicia-se em diferentes épocas da vida, além de acarretar resultados distintos para as diversas partes e funções do organismo. Muitas vezes, a senescência é analisada sob uma perspectiva negativa, sendo considerada simplesmente como um processo de declínio e insucesso graduais e inevitáveis de vários processos de manutenção da vida (CAMPISI *et al.*, 2019; NERI, 2005).

O campo do conhecimento sobre a senescência celular é atualmente um dos ramos da ciência em expansão. Suas descobertas trazem uma grande promessa para tratamentos eficazes de doenças relacionadas ao envelhecimento devido ao acúmulo de células senescentes (OGRODNIK, 2021). Alguns marcadores têm sido apontados para indicar a senescência humana, sendo ainda importante ampliar a compreensão sobre a interação entre eles (LOPEZ-OTÍN *et al.*, 2013). Segundo Campisi *et al.* (2019), são marcadores para senescência:

(1) instabilidade genômica decorrente de estresse oxidativo e reparos insuficientes ao DNA;

- (2) alterações epigenéticas induzidas por desajustes na metilação do DNA ou acetilação e metilação de histonas, bem como de outras proteínas associadas à cromatina;
- (3) encurtamento dos telômeros, como consequência da divisão celular ao longo da vida;
- (4) perda da proteostase (homeostasia proteica), caracterizada pela incapacidade de regulação de um proteoma;
- (5) sensibilidade desregulada a nutrientes, cuja via de sinalização semelhante à da insulina (IGF-1) informa às células a presença de glicose;
- (6) disfunção mitocondrial independente da presença de espécies reativas de oxigênio;
- (7) senescência celular, a partir de danos teloméricos ao DNA que comprometem a divisão celular;
- (8) esgotamento de células tronco, resultando da diminuição do potencial regenerativo dos tecidos; e
- (9) alteração da comunicação intercelular, resultado da sinalização neuro-hormonal desregulada como o aumento das reações inflamatórias.

Apesar das diversas teorias existentes, o processo de envelhecimento ainda não foi totalmente esclarecido. Acredita-se que a combinação de diferentes teorias possa explicá-lo. Assim, verifica-se que organismos cuja constituição genética apresenta uma melhor adaptação ou que sofram uma menor exposição aos fatores extrínsecos prejudiciais (como poluição, tabagismo, radiação, radicais livres, compostos tóxicos, como as aminas heterocíclicas, entre outros) podem manifestar menores declínios celulares, o que retardaria o processo de envelhecimento celular e sistêmico (COMINETTI; ROGERO; HORST, 2016).

O envelhecimento é frequentemente associado a problemas de saúde e, particularmente, ao início e progressão de doenças crônicas como a hipertensão e o câncer (AWANG *et al.*, 2018; MESSERLI *et al.*, 2018). Segundo WHO (2020), o câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo, tendo sido o responsável por quase 10 milhões de mortes em 2020. Muli *et al.* (2020) relataram que a alta incidência de hipertensão são mostradas nos numerosos inquéritos de base populacional em várias regiões do mundo que estimam que 7 em cada 10 adultos, com 65 anos ou mais, foram diagnosticados com hipertensão arterial.

Uma dieta pouco saudável associada a outros fatores de risco estão relacionadas com os altos índices de doenças crônicas. Explorar os fatores que contribuem para o surgimento destas é extremamente importante no planejamento de intervenções para diminuição desses riscos (ZHAO *et al.*, 2018). Há uma busca crescente sobre análises do potencial antioxidante e inibição de enzimas envolvidas com o metabolismo de carboidratos, reduzindo a índice glicêmico e da glicemia pós-prandial, como a α -glicosidase e de outras, como a acetilcolinesterase, cuja participação em doenças neurodegenerativas é bem conhecida (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2019; WANG *et al.*, 2020). O consumo de alimentos funcionais, fontes de compostos fenólicos, flavonoides, e aminas bioativas com possível inibição das enzimas citadas, associados a estilo de vida saudável, podem sinergicamente contribuir para a promoção da saúde e para o aumento da longevidade associada à qualidade de vida (ADEFEGHA, 2018).

2.2 FRUTAS DO CERRADO

O Cerrado é conhecido como “savana brasileira” e constitui o segundo maior bioma do país ocupando uma área de aproximadamente 25%, sendo apenas menor em extensão que a floresta amazônica. Cerca de 90% do Cerrado está localizado nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Bahia (PRADO *et al.*, 2020).

Por ser uma área com grande relevância ecológica, com vegetação diferenciada e a contínua ameaça de espécies em extinção, esse bioma foi identificado como um dos *hotspots* de biodiversidade do mundo, com cerca de 4.400 espécies endêmicas de plantas e mais de 58 espécies de frutas nativas conhecidas. No Brasil, apenas dois biomas ganharam esse título: o Cerrado e a mata atlântica (FERNANDES *et al.*, 2018). Diante desse cenário, as espécies frutíferas (Quadro 1) têm grande potencial agrícola e tecnológico e são dotados de alto valor nutricional, além de possuírem atributos de cor, sabor e aroma muito peculiares (ARAÚJO *et al.*, 2018; BAILÃO *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2017).

Quadro 1- Algumas espécies frutíferas do bioma Cerrado

Nome científico	Nome popular
<i>Annona crassiflora</i>	Marolo
<i>Acrocomia aculeata</i>	Bocaiuva
<i>Brosimum gaudichaudii</i>	Mama-cadela
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Murici
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	Gabiropa
<i>Caryocar brasiliense</i>	Pequi
<i>Dipteryx alata</i>	Baru
<i>Eugenia dysenterica</i>	Cagaita
<i>Hancornia speciosa</i>	Mangaba
<i>Mauritia flexuosa</i>	Buriti
<i>Psidium firmum</i> O. Berg	Araçá-do-Cerrado

Fonte: Reis e Schmiele (2019).

Embora seja observado um crescente aumento de estudos com frutas nativas e o desenvolvimento de novos produtos alimentícios baseados nelas, as informações sobre o potencial nutricional e funcional das frutas do Cerrado é limitado ou, muitas vezes, inexistentes, havendo carência de investimentos científicos nesta área (SILVA *et al.*, 2017). Segundo Bailão *et al.* (2015), essas frutas vêm recebendo cada vez mais atenção como fonte de compostos bioativos que desempenham um papel particularmente importante na saúde humana por apresentarem ação antioxidante, quimiopreventiva, dentre outras. Além desses benefícios, a realização de pesquisas com as frutas do Cerrado pode contribuir com a valorização do bioma, com o desenvolvimento sustentável de povos e comunidades tradicionais ali residentes e, conseqüentemente, com a conservação de sua biodiversidade (FERNANDES *et al.*, 2018).

2.3 MAROLO (*Annona crassiflora*): CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS E NUTRICIONAIS

Annonaceae é uma família de plantas dicotiledôneas compostas por árvores, arbustos e lianas pertencente à classe Magnoliopsida, subclasse Magnoliidae e

ordem Magnoliales. Possuem mais de 130 gêneros e 2.106 espécies de plantas pantropicais. No Brasil, abrange 32 gêneros, sendo sete endêmicos e 380 espécies com ocorrência especialmente em ecossistemas de florestas tropicais. O bioma amazônico contém três quartos de todas as espécies de *Annonaceae*, com 268 ocorrendo aqui no Brasil. Enquanto isso, a Mata Atlântica abriga 98 espécies e o Cerrado tem aproximadamente 52 espécies (CASCAES *et al.*, 2021).

Segundo Schiassi *et al.* (2018), as frutas dessa família (Quadro 2) podem se tornar uma fonte inesgotável de recursos nutricionais, funcionais e farmacológicos desde que sejam manejados de forma adequada e sustentável. Isso por serem fontes potenciais de compostos bioativos que desempenham papel importante na prevenção de doenças e potencial utilização pelas indústrias alimentícias para o desenvolvimento de novos produtos.

Quadro 2 – Outras espécies frutíferas da família *Annonaceae* presentes no Cerrado brasileiro

Nome científico	Nome popular
<i>Annona warmingiana</i>	Araticum rasteiro
<i>Annona mucosa</i>	Biribá
<i>Annona cherimola</i>	Cherimoia
<i>Annona squamosa</i>	Fruta-do-conde
<i>Annona muricata</i>	Graviola
<i>Annona monticola</i>	Jaquinha do campo

Fonte: Muniz (2018).

O marolo, *Annona crassiflora*, pertence à família *Annonaceae*, é uma fruta de uma árvore inerme, caducifolia, heliófila, monoica, com até 8 m de altura e 25 cm de diâmetro a altura do peito (DAP). O tronco é tortuoso, revestido por uma casca áspera, resistente ao fogo (AGOSTINI-COSTA, 2016; MAAS *et al.*, 2001; MELO) (Figura 1). Segundo Arruda, Pereira e Pastore (2019), a fruta também é conhecida como araticum, articum, pinha do Cerrado, cascudo, panã e cabeça-de-negro.

Figura 1 – Fotografia ilustrativa da árvore conhecida como maroleiro (*Annona Crassiflora*)



Fonte: autoria própria (2022).

Conforme Silva *et al.* (2020a), o marolo é encontrado nos meses de fevereiro e março, apresentando uma massa de aproximadamente 1,0 kg, grande quantidade de sementes (104 em média) e densidade de 1,09 g/cm³. No entanto, as frutas são altamente desiguais com grande variação de massa, forma e volume.

A fruta (Figura 2) possui forma oval a globosa, medindo entre 12-18 x 14-20 cm e pesando de 0,5 a 5,0 kg (Figura 2A). Sua casca é espessa, com coloração variando de tons amarronzados a ferrugíneos e que, quando madura, desprende-se facilmente da polpa (Figuras 2A a 2D). O marolo apresenta carpídios muito salientes, variando entre 60 e 190 por fruta. A polpa possui coloração que varia entre tons esbranquiçados a amarelados, sendo esta última de sabor mais acentuado e mais aceita pelos consumidores (Figura 2B e 2D).

Figura 2 – Fotografia ilustrativa da *Annona crassiflora*



Fonte: autoria própria (2022).

Legenda: (A): Forma e aparência;

(B): Polpa amarelada com carpídios soltos, visível após remoção parcial da casca;

(C): Sementes;

(D): Corte sagital mediano com destaque para polpa em tom esbranquiçado, envolvendo as sementes.

Segundo Cardoso *et al.* (2013), a polpa de marolo representa aproximadamente 52,9% do seu peso, o que indica uma grande quantidade de resíduos. Possui sabor levemente adocicado, aroma agradável e textura variando conforme o grau de maturação, sendo firmes quando no início da maturação e mais amolecidas quando completamente madura. As sementes são numerosas, obovadas, marrons, duras, com aproximadamente 15 x 10 mm, revestida em uma polpa amarelada, mole e aromática (Figura 2C).

A polpa do marolo apresenta atividade de água média equivalente a 0,98 e pH próximo de 4,5, o que a classificaria como uma fruta pouco ácida. Em média, os valores de sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT) são equivalentes a 9,57 °Brix

e 0,30 g ácido málico/100 g. A razão desses parâmetros físico-químicos proporciona elevado valor de SS/AT na fruta madura, sendo identificados valores médios superiores a 32,3 (MORAIS *et al.*, 2017).

A composição nutricional da polpa de marolo é caracterizada por teores médios de umidade e cinzas, variando entre 73,3 e 82,4 g/100 g e 0,42 e 0,47 g/100 g, respectivamente. O conteúdo de carboidratos, proteínas e lipídeos, varia entre 14,39 e 19,10 g/100 g; 1,12 e 1,52 g/100 g e 1,06 e 3,50 g/100 g de polpa, respectivamente. Uma porção de 100 g da polpa da fruta fornece entre 74,1 e 95,1 Kcal (CARDOSO *et al.*, 2013; MORAIS *et al.*, 2017). Considerando seus micronutrientes, a polpa de marolo é fonte de vitamina A (288,79 equivalentes de ácido retinoico/100 g), vitamina C (5,23 mg/100 g), vitamina E (494,04 µg/100 g), α -tocoferol (163,11 µg/100 g) e folatos totais (27,36 µg/100 g) (CARDOSO *et al.*, 2013). A associação das características físico-químicas, nutricionais e sensoriais do marolo, faz desta fruta uma opção saudável e bem aceita pela população, além de despertar o interesse pela sua utilização como matéria-prima para o desenvolvimento/elaboração de produtos alimentícios, a exemplo de geleias, doces e iogurtes (CARDOSO *et al.*, 2013).

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS NA POLPA DO MAROLO E SUAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

O marolo é fonte de compostos bioativos, a exemplo de carotenoides, com valor total equivalente a 4,98 mg/100 g e predomínio de α -caroteno e β -caroteno (CARDOSO *et al.*, 2013); diversos compostos fenólicos, como os ácidos cafeico e ferúlico; e flavonoides como a rutina, quercetina e xantoxilina (ROESLER *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos são partes de metabólitos secundários encontrados principalmente em espécies de plantas com enorme diversidade estrutural. Os flavonoides, subclasse de compostos fenólicos com mais de 8.000 exemplares, são os principais polifenóis na dieta humana (ALARA; ABDURAHMANAN; UKAEGBU, 2021). Os flavonoides são uma classe de compostos que ilustram a variedade e o grande número de compostos específicos que podem ser encontrados em alimentos vegetais. Os flavonoides podem ser subdivididos em flavonóis, di-hidroflavonois, isoflavanos e flavanois. (DELGADO; ISSAOUI; CHAMMEM, 2019). Stafussa *et al.*

(2018) determinaram a concentração de flavonoides totais de 44 frutas nativas e exóticas do Brasil. Os autores afirmaram que a catequina é um dos principais flavonoides encontrados na polpa do marolo e contribuem com a sua atividade antioxidante.

Arruda *et al.* (2018b) encontraram na polpa do marolo, em base úmida, os seguintes compostos fenólicos: catequina (768,42 µg/g), epicatequina (661,81 µg/g), ácido cafeico (124,31 µg/g), ácido protocatecuico (97,92 µg/g), ácido ferúlico (53,71 µg/g), ácido clorogênico (43,45 µg/g), ácido gentísico (14,00 µg/g), ácido p-cumárico (11,86 µg/g), rutina (9,31 µg/g) e quercetina (7,80 µg/g).

De acordo com pesquisas epidemiológicas e meta-análises, a longo prazo, o consumo de dietas ricas em compostos fenólicos protege contra câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, osteoporose e doenças neurológicas. Esse fator é associado a menores índices de mortalidade e aumento da longevidade (RAHMAN *et al.*, 2022). As frutas são as principais fontes de flavonoides e seus benefícios à saúde estão associados à ação antioxidante (DELGADO; ISSAOUI; CHAMMEM, 2019).

De modo geral, os compostos fenólicos apresentam reconhecida atividade antioxidante, relatada e presente na polpa de marolo (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2019; SOUZA *et al.*, 2012; STAFUSSA *et al.*, 2021). Os antioxidantes são definidos como quaisquer moléculas capazes de inibir, reduzir ou retardarem a oxidação de outras moléculas. Esses compostos podem apresentar diferentes mecanismos, como consumir o oxigênio reativo, quelar os metais de transição, doar átomos de hidrogênio, inibir enzimas envolvidas no estresse oxidativo e proteger os sistemas de defesa endógenos. Nesse contexto, os antioxidantes podem modular a produção de radicais livres, associados ao desenvolvimento de várias doenças crônicas e degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer, dentre outros (ARRUDA; PEREIRA; PASTORE, 2019).

A potente atividade antioxidante do marolo tem sido atribuída principalmente à presença de compostos fenólicos que contêm um ou mais grupos hidroxila em sua estrutura. Esses compostos podem ser divididos estruturalmente em ácidos fenólicos (essencialmente ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinâmico) e flavonoides (OLSZOWY, 2019). A combinação de compostos fenólicos entre si e com outros

compostos bioativos podem aumentar significativamente sua atividade antioxidante (ARRUDA *et al.*,2018b; ARRUDA, PEREIRA E PASTORE, 2018a).

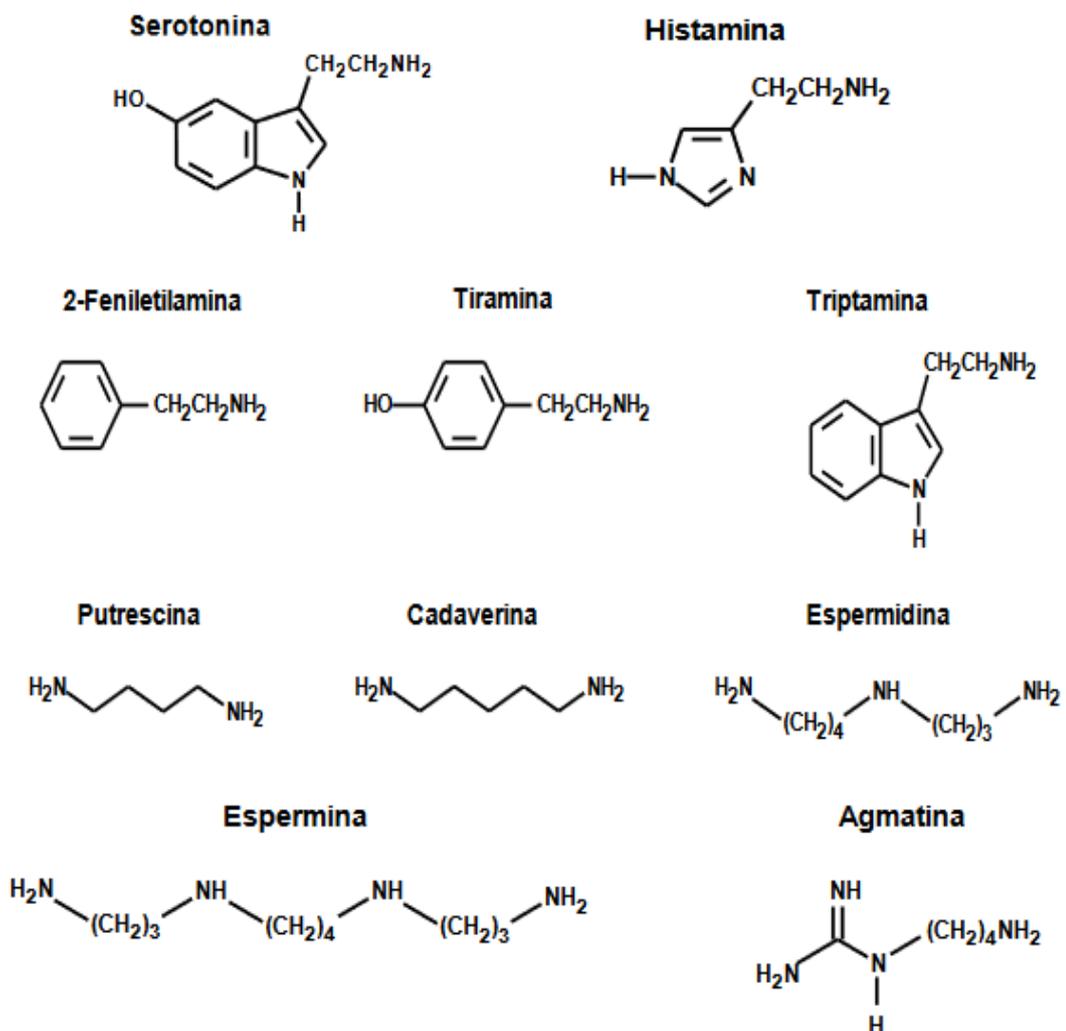
Os potenciais efeitos funcionais do marolo, indicados na literatura a partir de métodos *in vitro*, reforçam a necessidade da realização de ensaios *in vivo*, com modelos animais, a fim de comprovar as propriedades funcionais, possibilitar a descoberta de novos efeitos e fornecer subsídios para a realização de ensaios clínicos. Além disso, ainda são inexistentes, pesquisas de bioacessibilidade dos compostos bioativos identificados no marolo e do perfil de outros grupos de compostos funcionais, a exemplo das aminos bioativas.

3 AMINAS BIOATIVAS

Segundo Giroto *et al.* (2010), o termo amina se refere, a uma base orgânica derivada da amônia. Na biologia, o termo está relacionado a compostos formados ou degradados durante os processos metabólicos normais dos seres vivos, apresentando diferentes funções fisiológicas.

As aminas bioativas são moléculas orgânicas de baixo peso molecular (Figura 3) compostas por um ou mais grupamentos amina com cadeias de carbono de diferentes comprimentos. Elas são encontradas nas células, fluidos, órgãos e tecidos de organismos vivos (OLĞAÇ; AKÇAY, 2021).

Figura 3 – Estrutura química de algumas aminas bioativas



Fonte: Glória (2005).

Segundo Adão & Glória (2005), as aminas bioativas podem ser classificadas (Figura 4) em diferentes critérios:

(a) de acordo com o número de grupamentos amina: podem ser monoaminas (tiramina, feniletilamina), diaminas (histamina, serotonina, triptamina, putrescina, cadaverina) ou poliaminas (espermina, espermidina e agmatina);

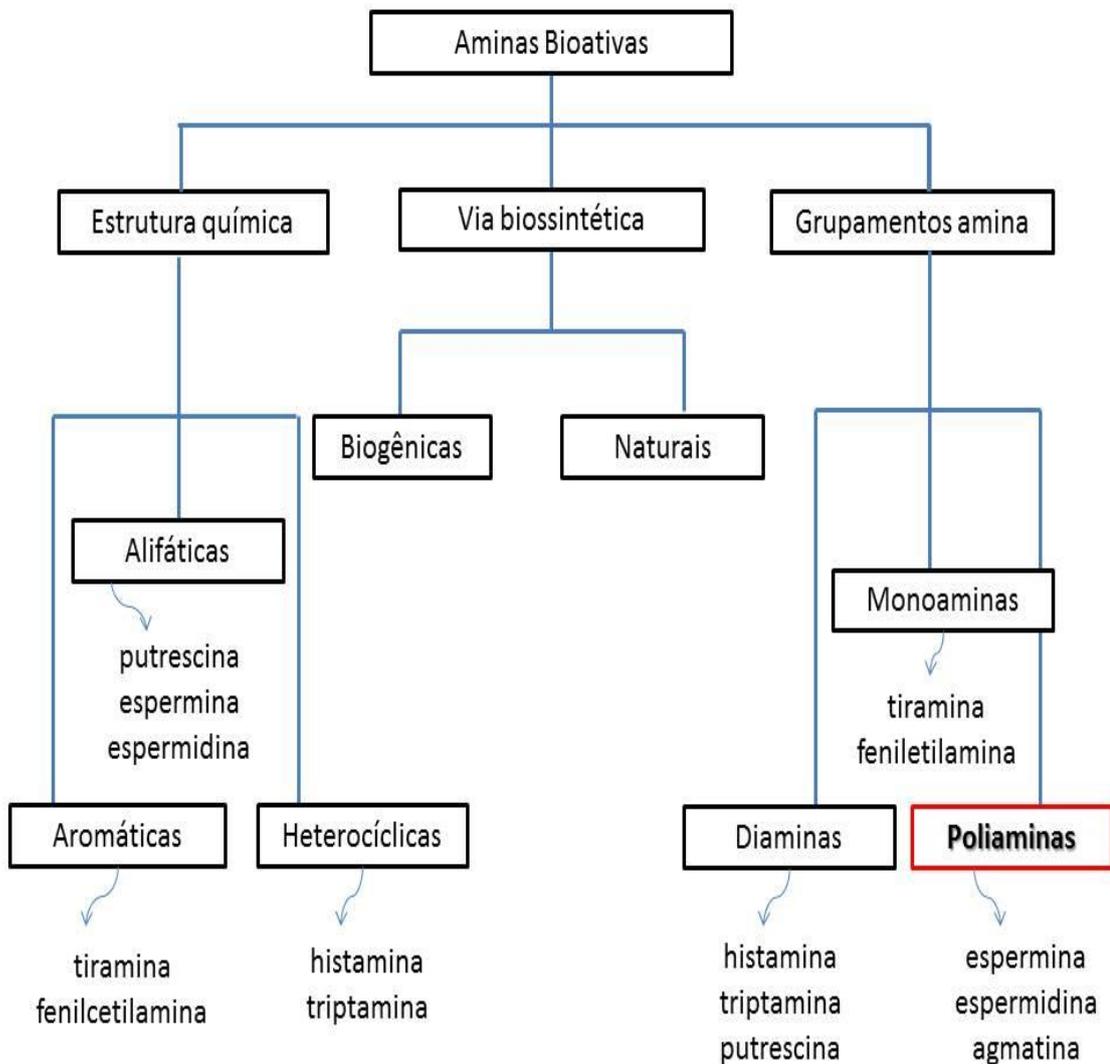
(b) de acordo com a estrutura química as aminas podem ser: alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina, espermidina, agmatina) ou aromáticas (tiramina, feniletilamina, histamina, triptamina, serotonina). Também podem ser classificadas em função do grupo químico como indolaminas (serotonina) e imidazolaminas (histamina);

(c) de acordo com a via biossintética, as aminas podem ser: naturais ou biogênicas, estas últimas quando sintetizadas a partir da ação aminoácido descarboxilase de micro-organismos;

(d) de acordo com as funções fisiológicas, são classificadas em aminas biogênicas ou poliaminas. As aminas biogênicas são psico- ou vasoativas, enquanto as poliaminas desempenham papel importante no crescimento celular e função antioxidante.

De acordo com BARDÓCZ *et al.* (1995), os produtos de descarboxilação proporcionada pela ação de micro-organismos sobre alguns aminoácidos específicos, como: arginina, ornitina, lisina, histidina, tirosina e fenilalanina podem formar as aminas putrescina, cadaverina, histamina, tiramina e feniletilamina, respectivamente. Pelo mesmo mecanismo, a descarboxilação do triptofano pode formar serotonina e triptamina.

Figura 4 – Classificação das aminas bioativas



Fonte: Adaptado de Glória (2005).

3.1 POLIAMINAS

3.1.1 Definição química e classificação

As poliaminas são policatiônicas, alifáticas, de baixo peso molecular, solúveis em água, com valores de pKa em torno de 10 e estão completamente protonadas em pH corporal. São parcialmente metabolizadas na parede intestinal caindo na circulação para serem distribuídas por todo o organismo sendo captadas pelos tecidos. Ocorrem em concentrações que variam de acordo com os tipos de células,

sendo encontradas em quantidades elevadas em tecidos com altas taxa de crescimento como o intestino, timo e fígado (MUÑOZ-ESPARZA *et al.*, 2019).

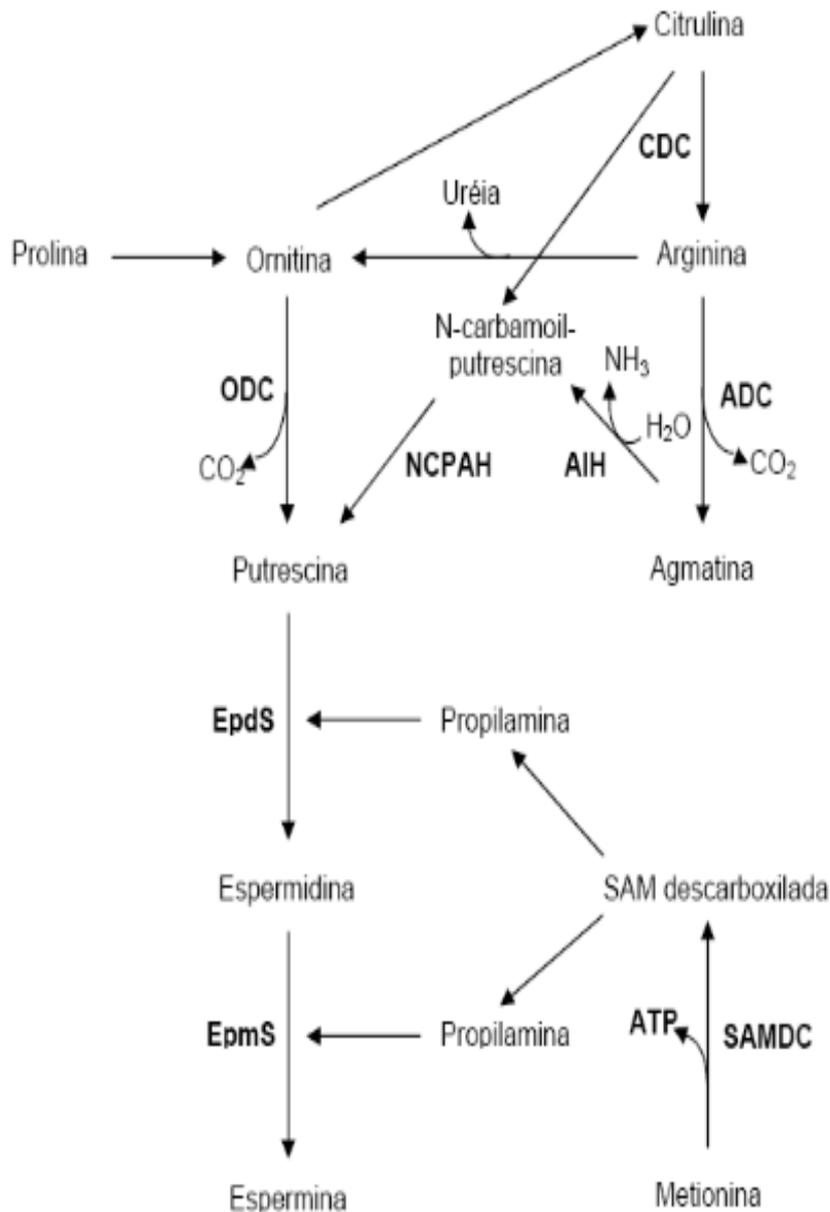
O termo poliamina é utilizado para designar dois compostos, sendo eles espermidina [N-(3-aminopropil)-1,4-butano diamina] e espermina [N,N'-bis-(3-aminopropil)1,4-butano diamina]. A agmatina foi identificada também como uma poliamina. Entretanto, essa molécula possui poder antioxidante inferior ao da espermidina e espermina e não apresenta efeito no crescimento como elas. A agmatina é derivada da arginina por descarboxilação (MUÑOZ-ESPARZA *et al.*, 2019).

3.1.2 Síntese

As poliaminas são principalmente sintetizadas pela via ornitina; entretanto alguns tecidos podem sintetizar via agmatina ou arginina (McNAMARA; GORBET; WILSON, 2021). A putrescina é um intermediário obrigatório da síntese de poliaminas (Figura 5), que por sua vez, tem os aminoácidos ornitina e arginina como precursores (ADÃO; GLÓRIA, 2005).

Pegg (2016) e Bae *et al.* (2018) relatam que a síntese de poliaminas é um processo que inclui, nos primeiros passos, reações de descarboxilação, que podem ocorrer via ornitina, pela ação da ornitina descarboxilase (ODC), assim como via arginina, citrulina ou metionina. A agmatina é metabolizada em putrescina por uma conversão em dois passos. A agmatina imuno hidrolase (AIH) catalisa a formação de N-carbamoilputrescina que é convertida em putrescina pela ação da N-carbamoilputrescina amino hidrolase (NCPAH). A N-carbamoilputrescina também pode ser formada pela citrulina por meio da citrulina descarboxilase (CDC).

Figura 5 – Via para síntese de poliaminas via ornitina, agmatina ou arginina



Fonte: Glória (2005).

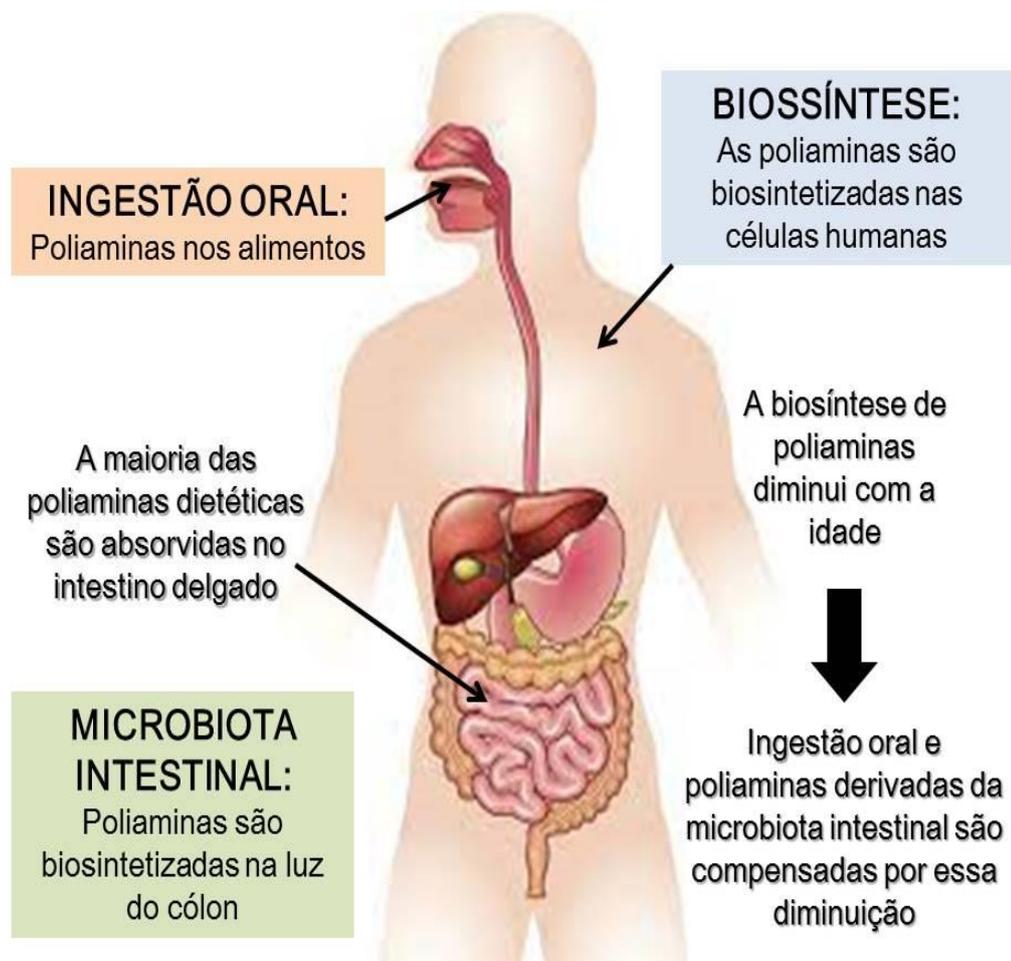
Legenda: ADC: arginina descarboxilase; AIH: agmatina imuno hidrolase; CDC: citrulina descarboxilase; EpdS: espermidina sintase; EpmS: espermina sintase; ODC: ornitina descarboxilase; NCPAH: N-carbamoilputrescina amino hidrolase; SAM: S-adenosilmetionina; SAMDC: S-adenosilmetionina descarboxilase.

Para a formação de espermina e espermidina, a metionina é convertida em S-adenosilmetionina (SAM) e, pela ação da S-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC), forma adenosilmetionina descarboxilada, fornecendo um grupo

propilamina à putrescina formando a espermidina, pela espermidina sintase (EpdS), e outro grupo à esta última formando a espermina, pela espermina sintase (EpmS) (HANDA *et al.*, 2018; McNAMARA *et al.*, 2021).

O ser humano pode obter poliaminas por meio de três fontes principais: (i) biossíntese *in situ in vivo* à medida que são requeridas; (ii) ingestão direta através da dieta; (iii) síntese e liberação pela microbiota bacteriana residente no trato gastrointestinal (Figura 6) (HIRANO; SHIRASAWA; KURIHARA, 2021). Sabe-se que a dieta é uma fonte importante e é susceptível de modulação para fornecer, parte significativa de poliaminas necessárias para manter o metabolismo normal. Além disso, essas poliaminas exógenas podem ser preferencialmente dirigidas para tecidos cujo crescimento tenha sido estimulado (BARDÓCZ, 1995).

Figura 6 – Fontes de poliaminas no homem



Fonte: Adaptado de Hirano; Shirasawa e Kurihara (2021).

A síntese por meio da microbiota do cólon é consequência da hidrólise de proteínas, liberando aminoácidos (livres) que servem de precursores para a produção de poliaminas (NAKAMURA; OOGA; MATSUMOTO, 2019).

3.1.3 Bioatividade

A carga elétrica positiva elevada denota a atividade de interação mais alta com os íons celulares. A espermina é altamente ativa por causa de seus quatro grupos amino carregados positivamente, enquanto a putrescina mostra a atividade de interação mais baixa, uma vez que contém dois grupos amino (SAGAR *et al.*, 2021).

De acordo com Bae *et al.* (2018) e Nakanishi e Cleveland (2021), as poliaminas podem se ligar prontamente a uma série de moléculas carregadas negativamente em condições fisiológicas, incluindo DNA, RNA, ATP, certos tipos de proteínas e fosfolípidios. Assim, elas desempenham papel essencial no crescimento celular, proliferação, diferenciação, desenvolvimento, imunidade, regulação e expressão gênica, estabilidade do DNA, bem como síntese de proteínas e ácidos nucleicos (PEGG, 2016).

A interação das poliaminas com o RNA afeta as proteínas celulares de várias maneiras, como a formação de complexos de iniciação necessária para a tradução na síntese proteica e mudança nas estruturas dos ribossomos. As poliaminas também podem influenciar a estrutura da proteína pelo efeito direto ou indireto sobre a degradação e processamento da proteína pós-tradução (SAGAR *et al.*, 2021). As poliaminas ainda exercem várias atividades de regulação e expressão gênica como a iniciação da subunidade 30S do ribossomo para montagem, expressão da proteína no nível celular e iniciação para formar RNAt de isoleucina (HIRANO; *et al.*, 2021).

Conforme Ou *et al.* (2016), a função na diferenciação e proliferação celular evidencia a interação com a fosfoproteína nuclear p53, a qual tem papel essencial na regulação de vários genes envolvidos no crescimento e morte celular. Apesar da clara relação das poliaminas com a divisão, proliferação e crescimento celular, não há na literatura evidências de que as poliaminas possam iniciar um processo cancerígeno, embora existam fortes indícios sobre sua relação na aceleração do desenvolvimento de um tumor (HANDA *et al.*, 2018). Além da p53, vários estudos mostraram o efeito das poliaminas nas vias de sinalização celular ao afetar o estado

e os níveis das proteínas principais reguladoras, a citar: CDK-4, GSK-3 β , p27Kip, p21Cip1, Src, EGFR, Mdm2, proteína quinase B/Akt, e importin- α 1; que são reguladoras de processos como fosforilação, desfosforilação, síntese e degradação celular (PEGG, 2009, SAGAR *et al.*, 2021).

As poliaminas também têm papéis importantes na resposta imunológica. As células B autorreativas e células T, juntamente com células cancerosas, contêm concentração mais alta de poliaminas durante doenças autoimunes. O catabolismo da L-arginina em células supressoras mieloides e tumorais diminui as funções das células T citotóxicas, o que sugere uma ligação entre a supressão de células T e as poliaminas. Foi observado que a maior concentração de poliaminas em um paciente autoimune forma um agrupamento nuclear que reage com RNA, DNA e outras moléculas para estabilizar autoantígenos. A formação de DNA de fita simples ou dupla é a resposta predominante de células B autoimunes (HESTERBERG; CLEVELAND; BURNETTE, 2018).

As poliaminas no leite materno exercem vários efeitos diretos e indiretos no intestino de recém-nascidos e atuam como fatores de crescimento e promotores da maturação intestinal. O efeito protetor do leite contra alergias pode ser explicado pelos altos níveis de poliaminas, o que leva a uma redução na permeabilidade da proteína atingindo a submucosa intestinal e, assim, permitindo melhor maturação do sistema imunológico (GÓMEZ-GALLEGO *et al.*, 2016).

Diante de tantos papéis que desempenham, ainda vale destacar a atividade na manutenção da homeostase oxidativa celular, protegendo contra danos mediados por radicais livres e agindo como substratos para enzimas que produzem espécies reativas ao oxigênio (WANG *et al.*, 2019). Ademais, Bekebrede *et al.* (2020) ressaltam que as poliaminas auxiliam na fisiologia intestinal, apoiando a função de barreira e induzindo a maturação de células no local.

3.2 ESPERMIDINA E LONGEVIDADE

Muitos são os efeitos associados às poliaminas espermina e espermidina com a longevidade. Um número crescente de estudos tem mostrado que a espermidina retarda o envelhecimento em humanos. Além de sua capacidade de melhorar a aptidão celular em leveduras, plantas e em células de mamíferos, aumenta a

expectativa de vida de organismos multicelulares, incluindo nematoides, moscas e ratos (JIANG *et al.*, 2021; MADEO *et al.*, 2018).

Segundo Bae *et al.* (2018), o fenótipo do envelhecimento celular pode ser uma consequência do declínio relacionado à idade nos níveis dessa poliamina. Pucciarelli *et al.* (2012) demonstraram que os níveis de espermidina em indivíduos de 60 a 80 anos são menores do que aqueles encontrados em indivíduos com menos de 50 anos. No entanto, idosos acima de 90 anos têm níveis comparáveis aos de indivíduos com menos de 50, indicando que a preservação dos níveis de espermidina pode estar associada à longevidade humana ou que exista correlação mais forte do envelhecimento com a redução dos teores de espermidina (SODA, 2022). Há evidências de que a manutenção de teores normais de poliaminas é essencial para uma ampla variedade de funções celulares básicas (PEGG, 2016).

A espermidina desempenha papel importante na manutenção da estrutura, crescimento, proliferação celular e proteção contra estresse oxidativo. Embora a proliferação de células diminua com a idade, a atividade da ornitina descarboxilase também diminui e, portanto, as poliaminas na dieta tornam-se mais importantes com o envelhecimento, havendo a necessidade de aumentar o seu consumo. Os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios atribuídos à espermidina podem desempenhar papel importante na prevenção de patologias inflamatórias crônicas, como as doenças cardiovasculares. Maior ingestão de espermidina foi correlacionada com menor incidência de doenças cardiovasculares, diminuição da pressão arterial e insuficiência cardíaca (MADEO *et al.*, 2018). Eisenberg *et al.* (2016) mostraram que a sua suplementação exerce efeitos cardioprotetores, reduzindo a hipertrofia cardíaca e preservando a função diastólica em camundongos. Ademais, sua suplementação atenuou o estresse do retículo endoplasmático cardíaco durante o infarto agudo do miocárdio em ratos, ao inibir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (WANG *et al.*, 2019).

Alguns autores atribuem ao papel anti-inflamatório das poliaminas na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares, ação semelhante ao dos ácidos graxos poli-insaturados e das estatinas. Estudos em animais, principalmente em camundongos envelhecidos, demonstrou que a espermidina diminui a rigidez arterial induzida pela idade e o dano oxidativo das células endoteliais. Além disso, a suplementação por seis semanas de espermidina associada à espermina em camundongos reverteu às alterações associadas à idade na morfologia miocárdica

(fibrose miocárdica) (MADEO *et al.*, 2018; MUÑOZ-ESPARZA *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2017). Entretanto, Soda (2022) associa o efeito anti-inflamatório de uma dieta rica em poliaminas com o estímulo à metilação do DNA. A metilação desta região reduz a expressão da proteína de membrana de LFA-1 de células imunológicas, que aderem ao endotélio e diversas moléculas provocando quadro inflamatório crônico. Dessa forma, as poliaminas espermidina e espermina estariam envolvidas em mecanismos epigenéticos associados à amenização do quadro inflamatório crônico.

Liang *et al.* (2021) e Madeo *et al.* (2018) e afirmaram que a suplementação de espermidina tem se destacado para evitar a neurodegeneração e melhorar o desempenho cognitivo. Ensaio clínico para envelhecimento cognitivo mostraram o papel benéfico da espermidina na prevenção da disfunção mitocondrial do cérebro e declínio da memória relacionada à idade (PULESTON *et al.*, 2019). Depois que um estudo piloto sugeriu que 1 mg/dia de espermidina, proporcionou aos indivíduos adultos da pesquisa com declínio cognitivo subjetivo, uma ligeira vantagem no desempenho da memória em relação ao grupo que recebeu o placebo, iniciaram as pesquisas que avaliaram o efeito da suplementação de 2 mg/dia de espermidina na memória em idosos cognitivamente saudáveis com queixas subjetivas de memória.

O desempenho da memória foi moderadamente aprimorado no grupo de espermidina em comparação com placebo no final da intervenção. As estimativas de ingestão de espermidina na dieta em todo o mundo variam de 5 mg a 12 mg por dia (WIRTH *et al.*, 2019).

Madeo *et al.* (2018) relataram que esta poliamina preserva a função mitocondrial, exibe propriedades anti-inflamatórias e previne a senescência celular. Foi sugerida que a autofagia é intensificada por níveis mais elevados de espermidina. A autofagia desempenha um papel positivo em retardar o processo de envelhecimento por garantir a homeostase e proteostase da célula. Além disso, degrada as organelas danificadas, removendo e reciclando o material citoplasmático que iria se acumular durante o envelhecimento. Em síntese, a autofagia poderia ser considerada como um mecanismo de reciclagem celular, com a degradação daquelas células ou organelas que apresentem determinadas disfunções.

Para entender o papel da espermidina na regulação da autofagia, há a hipótese de sua ação por meio da hipusinação de EIF5A (proteína com fator de iniciação da tradução eucariótica 5A), porque ela serve como um substrato único para esse processo. A hipusina é um aminoácido encontrado em todos os

eucariotos, e EIF5A é a única proteína conhecida que contém esta modificação de aminoácido que regula a tradução de proteínas mitocondriais ricas em repetições de prolina (ZHANG *et al.*, 2019). De acordo com Metur e Klionsky (2020), uma contribuição importante deste estudo é a identificação da via EIF5A como potencial biomarcador sanguíneo para o envelhecimento. É importante ressaltar que essa via pode ser restaurada pela reposição dos níveis de espermidina, aumentando assim as respostas imunológicas das células B. Portanto, há fortes evidências da relevância clínica translacional direta da espermidina como um metabólito que pode modular o envelhecimento imunológico.

A indução de autofagia pela espermidina é independente das vias previamente associadas ao envelhecimento envolvendo sirtuínas. Também é independente da via canônica do mTOR, pois a espermidina não altera o *status* de fosforilação do mTOR ou de seu substrato, a proteína ribossômica S6 quinase. A espermidina afeta o perfil de acetilação de muitas proteínas, uma proporção significativa delas pertencendo à rede de proteínas da autofagia humana. Ela desencadeia principalmente a desacetilação no citosol e acetilação no núcleo. A espermidina pode induzir a autofagia em curto prazo sem transcrição de novas proteínas e a autofagia pela espermidina pode ser regulada por desacetilações citoplasmáticas (MINOIS, 2014).

Vários estudos destacam a hipótese de que as células T CD8+ de camundongos idosos e humanos reduziram a autofagia e o aumento da espermidina regulou positivamente a autofagia nessas células restaurando suas respostas imunológicas durante a senescência (LAHIRI; HAWKINS; KLIONSKY, 2019; PULESTON *et al.*, 2014; RUBINSZTEIN; MARINO; KROEMER, 2011; ZHANG *et al.* 2019).

Muñoz-Esparza *et al.* (2019) relataram um estudo feito em camundongos com idade avançada no qual foi administrada uma dieta com altos níveis de espermidina (1.540 nmol/g) e espermina (374 nmol/g). Foi observado um aumento nas concentrações desses compostos no sangue e redução dos níveis de marcadores pró-inflamatórios, metilação de DNA associada à idade e mortalidade. Estudos ainda devem ser explorados para averiguar se todos esses efeitos dependem das propriedades estimuladoras da autofagia da espermidina (HANDA *et al.*, 2018; MADEO *et al.*, 2018). Acredita-se que a espermidina exiba muitas dessas

propriedades antienvhecimento devido ao seu papel na indução da autofagia; no entanto, muitas questões ainda permanecem sem resposta a esse respeito.

3.3 TIRAMINA E SAÚDE

As aminas biogênicas são importantes substâncias mensageiras e reguladoras das funções celulares. Atuam como neurotransmissores, neuromoduladores e neurohormônios. A tiramina é uma amina biogênica, portadora de um único grupo amina, gerada através da descarboxilação do aminoácido tirosina em animais, plantas e micro-organismos. Está envolvida em muitos processos fisiológicos, dentre eles, a atuação como neuromodulador e precursor da octopamina. Além disso, tem efeitos cardiovasculares e modula o sistema imunológico celular (EL HUSSEINY *et al.*, 2022).

Os seres humanos obtêm tiramina por meio de síntese endógena, bem como por meio de sua dieta, sendo que uma variedade de fatores influencia o teor de tiramina dos alimentos. Estes incluem a disponibilidade de tirosina livre, bem como a presença de micro-organismos produtores de tiramina e as condições que suportam seu crescimento (ou seja, concentração favorável de sal, temperatura e pH). Além disso, fatores que afetam a atividade da enzima tirosina descarboxilase (por exemplo, temperatura, pH) também afetam o teor de tiramina dos alimentos (ANDERSEN *et al.*, 2018).

Normalmente, a tiramina é degradada pelas monoaminas oxidases (MAOs). Entretanto, a tiramina, quando ingerida em elevados teores pode apresentar efeitos adversos a saúde. A atividade das MAOs pode ser diminuída pela ingestão de álcool, e por medicamentos inibidores da MAO. A intoxicação por tiramina é também denominada “efeito do queijo”, com sintomas como dor de cabeça, enxaqueca, aumento da pressão sanguínea. Ao entrar nos nervos noradrenérgicos, a tiramina causa uma liberação de noradrenalina, que pode levar, em altas concentrações, efeitos tóxicos como dores de cabeça, dilatação da pupila e aumento da pressão arterial (ANDERSEN *et al.*, 2018; DALA-PAULA *et al.*, 2021a).

A administração oral de 400-500 mg de tiramina em indivíduos saudáveis elevou a pressão arterial sistólica em 30 mmHg. No entanto, após o pré-tratamento com um inibidor da MAO, um aumento semelhante na pressão arterial foi observado com doses muito mais baixas de tiramina (8 mg) (CHEN; WILKINSON, 2012).

De acordo com a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, a ingestão de 600 mg de tiramina por refeição pode causar efeitos adversos em indivíduos saudáveis que não fazem uso de inibidores da MAO, mas para indivíduos em tratamento com esses fármacos, o limite máximo tolerado por refeição diminui para 6 mg de tiramina (EFSA, 2011).

3.4 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS *IN VITRO*

As vantagens dos compostos bioativos e nutrientes para a saúde são baseadas nos níveis de ingestão e na quantidade desses compostos que se tornam bioacessíveis e biodisponíveis. Diferentes abordagens analíticas podem ser aplicadas para mensurar a bioacessibilidade de nutrientes e compostos bioativos (BARBA *et al.*, 2017; CASTALDO *et al.*, 2020; LINGUA *et al.*, 2019).

Os modelos usados para avaliar a bioacessibilidade de compostos bioativos podem ser *in vitro* (digestão gastrointestinal simulada, membranas artificiais, cultura de células Caco-2), *ex vivo* (avaliação laboratorial de órgãos gastrointestinais), *in situ* (perfusão intestinal animal), *in vivo* (testes em animais e humanos). A partir desses modelos, os procedimentos de digestão *in vitro* que simulam a digestão gastrointestinal têm sido aplicadas a uma variedade de matrizes alimentares para analisar diferentes compostos bioativos. Os procedimentos de digestão *in vitro* têm a vantagem de serem rápidos, de baixo custo, seguro, menos trabalhoso e sem restrições éticas que se aplicam a modelos *in vivo*. Além disso, modelos de digestão *in vitro* permitem maior controle das variáveis experimentais em comparação com os modelos *in vivo*. Assim, a simulação *in vitro* é considerada mais reprodutível.

O protocolo INFOGEST para análises de bioacessibilidade *in vitro* foi padronizado em um consenso internacional. É um método de digestão estática que avalia os desfechos resultantes da digestão de alimentos analisando os produtos da digestão e avaliando a liberação do analito (micronutriente, compostos não nutrientes, contaminantes etc.) da matriz alimentar. Usa proporções constantes de refeição para fluidos digestivos e um pH constante para cada etapa da digestão. Isso torna o método simples de execução, mas possui a desvantagem de não simular a cinética real da fisiologia digestiva. Usando este método, as amostras de alimentos são submetidas à digestão sequencial (oral, gástrica e intestinal), enquanto parâmetros como eletrólitos, enzimas, bile, diluição, pH e tempo de digestão são

baseados em dados fisiológicos disponíveis na literatura (BRODKORB *et al.*; 2019; MINEKUS *et al.*, 2014).

A digestão gastrointestinal *in vitro* é uma metodologia essencial para simular as condições fisiológicas do organismo humano e assim, proporcionar melhor compreensão acerca da bioacessibilidade de nutrientes e não nutrientes e o efeito em determinadas propriedades funcionais em potencial, de diferentes matrizes alimentares (STAFUSSA *et al.*, 2021).

3.5 BIOACESSIBILIDADE DE AMINAS BIOATIVAS

Ainda hoje existe lacuna de pesquisas voltadas para a bioacessibilidade de poliaminas nos alimentos. Poucos estudos estão disponíveis na literatura científica, dentre elas, um estudo da bioacessibilidade *in vitro* de aminoácidos e aminas bioativas em chocolate amargo 70% (Dala-Paula *et al.*, 2021a). Foram investigadas dez aminas bioativas no chocolate, porém estavam presentes apenas sete (cadaverina, 2-feniletilamina, putrescina, espermina, espermidina, triptamina e tiramina). As poliaminas foram predominantes antes da digestão *in vitro*, enquanto tiramina, cadaverina e espermidina após a digestão. Todas as aminas apresentaram alta bioacessibilidade com leve influência de enzimas digestivas. Os autores levantaram a hipótese de que o aumento do total de aminas na fase gástrica foi devido ao baixo valor do pH (2,0), sugerindo que essa condição foi responsável pela possível quebra das formas conjugadas de aminas com proteínas e compostos fenólicos. Foi mostrado que na fase gástrica ocorreu a maioria das alterações nas aminas individuais: tiramina aumentou mais (8,7 vezes), seguido por espermidina (5,9 vezes), espermina (2,9 vezes) e feniletilamina (2,6 vezes). Além disso, os conteúdos de espermina e espermidina foram maiores em relação ao controle (processo realizado sem adição das enzimas digestivas), reforçando a atividade da pepsina na bioacessibilidade das aminas (DALA-PAULA *et al.*, 2021a).

Outro estudo (REIS *et al.*, 2020a) descreveu a bioacessibilidade de poliaminas, em especial da espermidina, após simulação *in vitro* das etapas de digestão (gástrica e intestinal) *in vitro* de cogumelo (*Agaricus bisporus*) fresco e processado. Os autores verificaram que os níveis da poliamina espermidina não foram afetados com o processamento (cozimento e enlatamento) quando

comparados com o cogumelo fresco após a digestão gástrica e intestinal simulada *in vitro*, demonstrando que ela possui alta bioacessibilidade.

3.6 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E EFEITO DA DIGESTÃO *IN VITRO* NO POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Muitas pesquisas recentes acerca da bioacessibilidade de compostos fenólicos e do efeito da digestão no potencial antioxidante em alimentos destacam o comportamento dos compostos fenólicos e flavonoides ao longo da digestão. O aproveitamento desses compostos ainda é um ponto crítico para a pesquisa, pois eles podem sofrer diversas alterações que modificam sua bioacessibilidade e biodisponibilidade (Figura 7) (DIAS *et al.*, 2020).

Figura 7 – Fatores que afetam a bioacessibilidade de compostos fenólicos



Fonte: Melini *et al.* (2020). Adaptado pela autora.

Segundo Dutra *et al.* (2017), a bioacessibilidade de compostos fenólicos depende da matriz alimentar avaliada. Os autores ainda afirmam que várias transformações bioquímicas, como a formação de novos compostos, degradação e até a formação de substâncias pró-oxidantes podem ocorrer nos alimentos durante o processo digestivo e, assim, alterar seu potencial biológico.

A bioacessibilidade de compostos fenólicos pode variar de 30 a 100% para matrizes de plantas sólidas. No entanto, a ação de enzimas digestivas pode interferir na integridade e estabilidade desses compostos. Durante a digestão gastrointestinal, os compostos fenólicos presentes em frutas e vegetais podem ser influenciados por vários fatores: concentração no alimento, liberação da matriz, estrutura química, conjugação com outros compostos, tamanho da molécula, grau de polimerização e solubilidade (DIAS *et al.*, 2020). A digestão gastrointestinal pode promover a degradação de compostos fenólicos, além de aumentar as interações entre eles e outros componentes do alimento e alterar a viscosidade do meio, prejudicando sua bioacessibilidade (IGLESIAS-CARRES *et al.*, 2019; LUCAS-GONZALEZ *et al.*, 2018b).

No estudo de Araújo *et al.* (2021) sobre a bioacessibilidade e bioatividade de compostos fenólicos presentes em frações de araçá-boi submetidas à digestão gastrointestinal *in vitro*, foi observado que a fração comestível aumentou o teor de compostos fenólicos após digestão gástrica (123,4%), enquanto na fase intestinal não houve diferença nos teores de fenólicos totais em relação ao extrato bruto (não digerido). Verificou-se também um aumento do potencial antioxidante, determinado pelo método de ABTS após o processo digestivo das frações de araçá-boi. Os autores associaram o aumento dessa propriedade funcional em potencial com o aumento no teor de flavonoides, com reconhecida atividade antioxidante.

Dias *et al.* (2020) avaliaram a bioacessibilidade de compostos bioativos e a atividade antimicrobiana de extratos aquosos de *Physalis angulata L* (popularmente denominado camapú). A atividade antioxidante dos extratos foi determinada apenas pelo método do ABTS, que mostrou redução após a digestão. Esse resultado está relacionado aos baixos níveis de compostos fenólicos bioacessíveis. Durante a digestão gastrointestinal, os compostos fenólicos podem sofrer mudanças estruturais causadas pelas variações de pH, ação de enzimas digestivas ou aquelas presentes no próprio tecido vegetal, com conseqüente alteração molecular, resultando em comprometimento da atividade antioxidante. A conjugação de ácidos fenólicos com

outras moléculas ou com a própria matriz alimentar também pode alterar o potencial antioxidante.

A pesquisa de Sollano-Mendieta *et al.* (2021) demonstrou o efeito da digestão gastrointestinal *in vitro* em compostos antioxidantes de 12 variedades de seriguela (*S. purpurea* L.) no qual cada composto antioxidante apresentou um comportamento característico durante a digestão *in vitro*. Após a digestão, o teor de compostos fenólicos aumentou significativamente na fase gástrica (213,44 a 282,92 mg GAE/100 g) para a fase intestinal (241,57 a 511,75 mg GAE/100 g). No entanto, esse teor foi significativamente menor que aquele quantificado pela extração química, o que indica limitada bioacessibilidade. Assim como os compostos fenólicos, os flavonoides foram liberados gradualmente ao decorrer da digestão gastrointestinal. O percentual dos flavonoides totais após a digestão gástrica variou de 31,86 a 65,10%, enquanto o índice de bioacessibilidade após a digestão intestinal teve amplitude entre 72,76 e 95,57%. A bioacessibilidade dos flavonoides variou de acordo com as condições gástricas e intestinais (mudanças de pH e interação com as enzimas digestivas e outros compostos como ferro, fibra e proteínas).

Ao avaliar a digestão *in vitro* na bioacessibilidade e bioatividade de compostos fenólicos em frações de frutos de *Eugenia pyriformis*, observou-se que a semente de uvaia apresentou maior teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante em relação à fração comestível, mas este potencial foi significativamente reduzido após o processo. A partir da análise do mapa de calor foi possível observar que entre os compostos fenólicos identificados, os flavonoides aumentaram sua intensidade relativa (principalmente nas frações digestivas), enquanto os ácidos fenólicos reduziram sua intensidade, sugerindo que os ácidos fenólicos são os mais suscetíveis à degradação durante o processo digestivo. Isso, presumivelmente devido a uma menor complexidade química em comparação com os flavonoides, que foram encontrados principalmente na forma glicosilada (FARIAS *et al.*, 2021).

Em um trabalho de Cangussu *et al.*, (2021), os índices de bioacessibilidade de compostos fenólicos, flavonoides e taninos totais em polpas madura e semi-madura de umbu (*Spondias tuberosa* A.) foram 32,92% e 37,73%; 34,39% e 31,87% e 107,5% e 114,27%, respectivamente. As cascas e polpas desta fruta possuem diferentes composições de parede celular, o que interfere na digestão gastrointestinal. A composição da parede celular das cascas de umbu confere maior resistência quanto à extração dos compostos bioativos, quando comparadas com a

polpa da fruta, durante a digestão gastrointestinal. Isso reforça que a bioacessibilidade de compostos bioativos sofre influência da composição da matriz alimentar e, inclusive, do seu grau de maturação (CANGUSSU *et al.*; 2021).

Devido à escassez de pesquisas voltadas para a bioacessibilidade de poliaminas nos alimentos, o estudo com frutas do Cerrado brasileiro visa aprofundar o conhecimento das propriedades nutricionais e funcionais das mesmas. Sendo o marolo uma fruta típica desse bioma, o seu estudo tende a valorizar, reduzir impactos ambientais e promover o desenvolvimento sustentável das comunidades locais extrativistas. Além disso, ajudará a conservar a biodiversidade de diversas espécies de plantas e animais ameaçados de extinção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

Aproximadamente 3,5 kg de marolo foram adquiridos em estágio de maturação adequada ao consumo, quando a fruta perde o pedúnculo, provenientes do município de Machado/MG, Coordenada Geográfica - Latitude 21°41'58.59", Longitude 45°49'14.32" (Datum SIRGAS 2000) (GPSMAP GARMIN 60CSx, Olathe, Kansas, Estados Unidos) - e encaminhados à temperatura ambiente para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Alfenas.

As frutas foram previamente higienizadas em água corrente e em seguida foi realizado o *pool* das polpas após a separação manual da casca e das sementes. Logo a seguir, as polpas foram acondicionadas em embalagem plástica, identificadas e armazenadas sob refrigeração até o momento do preparo dos extratos (Figura 8).

Figura 8 – *Pool* da polpa dos marolos em embalagem plástica



Fonte: a autora (2022).

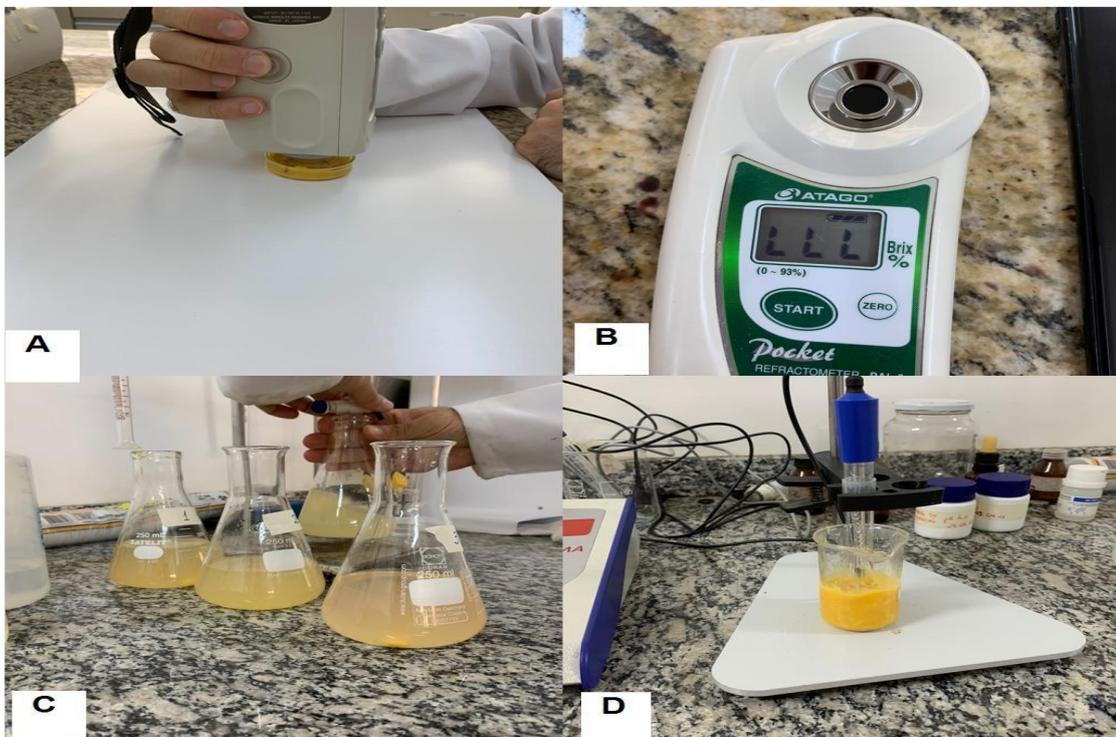
4.2 REAGENTES, SOLVENTES E ENZIMAS

Todos os reagentes e solventes utilizados nas análises eram de grau de pureza compatível com as análises (grau PA), os padrões de cada analito apresentavam grau de pureza $\geq 95\%$. As enzimas utilizadas nas análises de bioacessibilidade foram α -amilase (SIGMA A-317), pepsina (SIGMA P-7012) e pancreatina (SIGMA P-3292) de origem suína e bile bovina (SIGMA B-3883).

4.3 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

O pH foi determinado em triplicata utilizando peagâmetro digital de bancada (Lucadema LUCA-210, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). Inicialmente o eletrodo do peagâmetro foi mergulhado em água destilada e seco com papel macio. Em seguida foi calibrado com soluções tampão pH 4 e 7. Após calibrado, as leituras das amostras foram feitas (Figura 9D).

Figura 9 – Análise de cor, sólidos solúveis totais, acidez titulável e pH na polpa do marolo



Fonte: A autora (2022).

Legenda: (A) Análise de Cor; (B) Determinação de SST; (C) Acidez Titulável; (D) Determinação de pH.

4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

As amostras foram pesadas em balança analítica digital (Shimadzu AY220, Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) com capacidade máxima de 220 g. Após a pesagem de 1,0000 g, as amostras da polpa foram inseridas em cadinhos de porcelana previamente pesados e secos e levados ao aquecimento em estufa (QUIMIS, Diadema, São Paulo, Brasil) a 105 °C até peso constante. Em seguida, após resfriamento dos cadinhos em dessecador, eles foram pesados para determinação realizada por gravimetria através da fórmula:

$$\text{UMIDADE (\% ou g/100 g)} = \frac{N \times 100}{P}$$

sendo:

N = Perda de peso em gramas, ou seja, (massa da amostra + cadinho antes da estufa – massa do cadinho depois da estufa) {Peso inicial - Peso final}.

P= Quantidade de amostra (em gramas).

4.5 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL

A determinação da acidez titulável foi realizada (Figura 9C), em três replicatas, com uma alíquota de aproximadamente 3 g da polpa do marolo, triturado em liquidificador semi-industrial (Poli Siemens®), por 30 segundos, centrifugado a 7.000 x g por 5 minutos e filtrado. As análises foram realizadas por titulação com solução de NaOH a 0,1 N, previamente fatorado com padrão de biftalato de potássio, em presença de fenolftaleína para indicar o ponto de viragem. O teor de acidez titulável total foi calculado a partir da equação, sendo os resultados expressos em g/100 g de ácido cítrico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

$$\text{AT} = \frac{V \times N \times f \times 0,064 \times 100}{V_a}$$

Onde: V = volume em mL da solução de NaOH, N = normalidade da solução de NaOH, V_a = volume em mL da amostra, f = fator de correção do titulante.

4.6 DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados na polpa triturada do marolo *in natura*, em seis replicatas, em refratômetro digital (Marca ATAGO PAL-3, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) à 20°C, com os resultados expressos em °Brix (AOAC, 1995) (Figura 9B).

O ratio (SST/ATT) foi obtido a partir da divisão da média dos resultados de STT pela ATT (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.7 DETERMINAÇÃO DE COR DA POLPA

A análise da cor foi feita no ângulo de 90 °C e em ambiente isento de sombra por meio do colorímetro portátil (KONICA MINOLTA CR-10-Sensing, Tokio, Japão) (Figura 9A). Seis amostragens de aproximadamente 5 g da polpa de marolo foram adicionadas em placas de vidro, para a determinação da cor, em seis repetições. Observou-se o sistema de cores no qual: L representa a luminosidade ($L^* = 0$ é preto e $L^* = 100$ claridade total). As coordenadas que indicaram a direção das cores são: $+a^*$ = vermelho e $-a^*$ = verde; $+b^*$ = amarelo e $-b^*$ = azul. Além destas coordenadas de cores, também foi feita a leitura dos parâmetros de cor como o valor de croma $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, que representou a pureza da cor, e a medida do ângulo $h^* = \text{tg}^{-1}(b^*/a^*)$, que representou a tonalidade da cor (AOAC, 1995).

4.8 PREPARO DO EXTRATO PARA AS DETERMINAÇÕES DO POTENCIAL

ANTIOXIDANTE, DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS

Para a obtenção dos extratos, a polpa do marolo foi triturada em multiprocessador doméstico (Modelo Philco *all in one* 800 w, Manaus, Amazonas, Brasil). Uma alíquota de aproximadamente 2 g de polpa, foi pesada em triplicada em tubos Falcon de 50 mL. Em cada tubo foram adicionados 10 mL de solução de metanol-acetona-água (7:7:6 v/v/v), sendo a mistura, em seguida, homogeneizada durante 1 minuto em equipamento de vórtex de bancada (Modelo Global Trade Technology XH-DU, Jaboticabal, São Paulo, Brasil). A mistura foi mantida em banho de ultrassom a 25 °C por 30 min e centrifugada (Centrífuga Fanem Excelsa Baby Modelo 206-BL, Guarulhos, São Paulo, Brasil) a 4000 x g, por 5 min a 4 °C e então

filtrada em papel de filtro qualitativo. As etapas descritas foram repetidas por mais duas vezes, após adição de 10 mL do solvente em cada etapa. Ao final, os sobrenadantes foram combinados e o volume ajustado para 30 mL com a mistura de solvente utilizada. Os extratos filtrados foram encaminhados para as análises de potencial antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH, fenólicos e flavonoides totais por espectrofotometria.

4.9 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS•+

O potencial antioxidante foi determinado a partir do método espectrofotométrico de descoloração do radical catiônico ABTS•⁺ (2,2'-azinobis 3-etilbenzoatiazolina-6-ácidosulfônico), obtido a partir de sua neutralização com compostos antioxidantes presentes nas amostras, conforme metodologia descrita por Granato (2016). A solução de ABTS•⁺ foi preparada misturando solução aquosa 7mM de ABTS•⁺ com solução 2,45 mM de persulfato de potássio e incubado no escuro em temperatura ambiente por 12 horas. A solução resultante foi diluída até obtenção de absorbância igual a $0,7 \pm 0,05$, determinada em espectrofotômetro BelPhotonics Ultraviolet/Visible-M51 (Monza, Milão, Itália), ajustado em comprimento de onda de 734 nm.

A diferença de cor entre as leituras da solução completamente colorida, considerada a solução de 100% de radicais livres ABTS•⁺ (750 µL de ABTS•⁺ + 250 µL de solução de álcool etílico a 70% v/v) e da leitura da solução de radicais ABTS•⁺ contendo o extrato da amostra (750 µL de ABTS•⁺ + 250 µL de amostra adequadamente diluída) com incubação em ambiente escuro por 15 minutos, indicou o potencial antioxidante. A mistura foi analisada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 734 nm. Os resultados foram comparados com uma curva analítica construída com sete pontos de diferentes concentrações de solução padrão do antioxidante trolox. Duas soluções branco foram preparadas, substituindo a alíquota de amostra pela mistura de solvente utilizada nos extratos e mantendo a solução de ABTS. Os valores de absorbância encontrados nas leituras de cada amostra foram descontados das soluções branco, que possuíam os maiores valores de absorbância. Os resultados foram expressos em µM equivalente de trolox/ g (µM ET/g).

4.10 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH•

A atividade de captura do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) por antioxidantes foi quantificada conforme metodologia descrita por Margraf *et al.* (2016), com modificações, utilizando Trolox como padrão. Uma alíquota de 100 µL de cada amostra adequadamente diluída foi colocada em tubo de ensaio com 650 µL de solução de DPPH a 0,10 mM solubilizada em metanol, sendo manualmente homogeneizados e mantidos no escuro, em temperatura ambiente, por 30 minutos.

A absorbância foi medida em espectrofotômetro ajustado a 517 nm; e calculada a partir de equação da reta obtida por meio de uma curva de calibração de sete pontos, considerando diferentes concentrações do padrão de Trolox (20-100 µg/mL) e a taxa de eliminação do radical DPPH. A solução de etanol (70% v/v) foi utilizada como controle negativo.

4.11 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação dos teores de compostos fenólicos totais das amostras foi realizada conforme método descrito por Wang *et al.* (2020), com modificações. Uma alíquota de 160 µL adequadamente diluída foi adicionada em um tubo de ensaio contendo 80 µL do reagente de *Folin-Ciocalteu*, agitada manualmente por 10 segundos e mantida por 5 minutos a 25 °C. Um volume de 640 µL de Na₂CO₃ (7,5% p/v) foi adicionado e incubado, ao abrigo da luz, a 25 °C por 30 minutos. A absorbância foi mensurada a 756 nm, em espectrofotômetro. Os resultados foram quantificados a partir da equação da reta obtida por meio de uma curva padrão construída com sete pontos, com diferentes concentrações de padrão de ácido gálico (10-100 µg/mL). Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico/g de amostra (mg EAG/g).

4.12 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS

Os teores de flavonoides totais foram determinados conforme metodologia relatada por Boateng *et al.* (2008), com modificações. Uma alíquota de 625 µL de amostra adequadamente diluída foi adicionada em um tubo de ensaio. Em seguida,

foram adicionados 37,5 µL de nitrito de sódio (NaNO₂) a 5% (p/v), com agitação manual por aproximadamente 10 segundos e incubação por 5 minutos à temperatura de 25 °C. Após o período de incubação, foram adicionados 37,5 µL de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 10% (p/v). A mistura foi manualmente agitada por 10 segundos e levada para incubação por 5 minutos a 25 °C. Na sequência, foram adicionados 250 µL de hidróxido de sódio (NaOH) 1M e 350 µL de água destilada, com os tubos novamente agitados manualmente e incubados nas mesmas condições descritas anteriormente. A absorbância das amostras foi mensurada em espectrofotômetro (Modelo BelPhotonics Ultraviolet/Visible-M51, Monza, Milão, Itália) em comprimento de onda ajustado em 510 nm. Uma curva padrão de catequina foi construída e utilizada para a quantificação dos teores de flavonoides totais, expressos em mg equivalentes de catequinas/g de amostra (mg EC/g).

4.13 DETERMINAÇÃO DE AMINAS BIOATIVAS

Uma alíquota de aproximadamente 5 g da polpa de marolo foi adicionada de 7 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5% (p/v), seguida de agitação em vórtex (Global Trade Technology XH-DU, Jaboticabal, São Paulo, Brasil) por 15 minutos e centrifugação à 10.000 x g a 4°C por 10 minutos em centrífuga (Modelo CR21, Hitachi-Himac, Kyoto, Japão). O sobrenadante foi coletado e o resíduo sólido foi extraído outras duas vezes com mais 7 mL de TCA a 5%. O sobrenadante foi combinado e o volume total ajustado para 25-mL. O extrato foi filtrado por meio de membrana filtrante de 0,45 µm de poro (DALA-PAULA *et al.*, 2021a) e encaminhado para a quantificação de aminas bioativas. O processo de extração foi realizado em duplicata.

Os extratos obtidos foram submetidos à determinação de aminas bioativas por cromatografia líquida de alta eficiência, composto em um sistema LC-10 AD conectado a um detector RF-551 espectrofluorimétrico a 340 e 445 nm de excitação e emissão, respectivamente e um controlador CBM-10 AD (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão). Uma coluna µBondapack C18 de pareamento de ions, em fase reversa (300x3,9 mm i.d., 10 µm) foi usada para separação dos analitos. As fases móveis utilizadas foram: A) tampão de acetato de sódio 0,2 M e 10 mM de sal sódico do ácido 1-octanossulfônico, com pH ajustado em 4,9 com ácido acético glacial; B) 100% de acetonitrila grau cromatográfico. O fluxo utilizado foi de 0,8 mL/min e o

gradiente para a fase B foi de: 13 min a 11%, 19 min a 30%, 24 min a 11% e 45 min a 11%. A detecção foi realizada após derivatização pós-coluna com o-ftalaldeído.

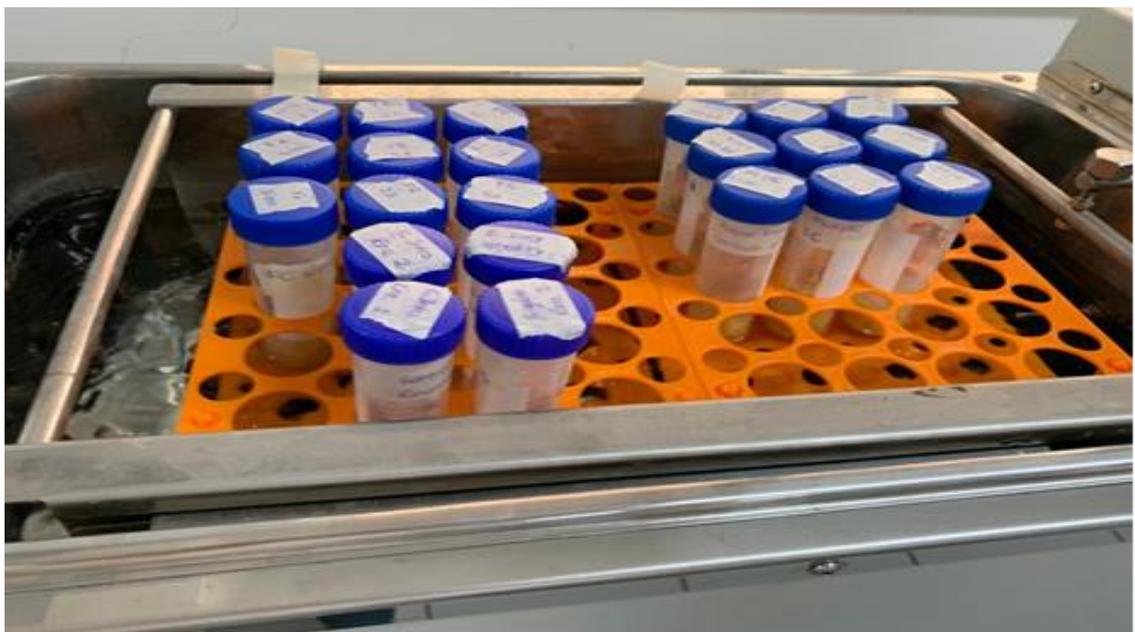
A solução derivante (1,5 mL de Brij-35 + 1,5 mL de mercaptoetanol + 0,32 g de o-ftalaldeído em 500 mL de solução contendo 25 g de ácido bórico e 22 g de KOH, com ajuste de pH para 10,5) foi ajustada para fluxo de 0,4 mL/min. A coluna foi mantida a 23 ± 1 °C. As aminas foram identificadas por cromatografia com os padrões e a quantificação realizada por meio de curva padrão construída com padrões externos de cada uma das dez aminas investigadas (Dala-Paula *et al.*, 2021a).

4.14 ENSAIO DE BIOACESSIBILIDADE

A simulação da digestão gastrointestinal (Figura 10) foi realizada seguindo o protocolo INFOGEST (MINEKUS *et al.*, 2014; BRODKORB *et al.*, 2019). O protocolo simulou, em triplicata, três etapas do processo digestivo:

- I) fase oral;
- II) fase gástrica;
- III) fase intestinal.

Figura 10 – Fotografia ilustrativa da digestão da polpa do marolo em banho maria com agitação



Fonte: A autora (2022).

Antes de iniciar a digestão *in vitro*, os fluidos: salivar, gástrico e intestinal foram preparados, considerando as concentrações finais dos sais apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de eletrólitos das soluções estoques dos fluidos digestivos salivar, gástrico e intestinal, para um volume de 400 mL em água.

Solução Salina Adicionada	Fase Oral (pH 7)	Fase Gástrica (pH 3)	Fase Intestinal (pH 7)
	Concentração em mM		
KCl	15,1	6,9	6,8
KH ₂ PO ₄	3,7	0,9	0,8
NaHCO ₃	13,6	25	85
NaCl	-	47,2	38,4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0,15	0,12	0,33
(NH ₄) ₂ CO ₃	0,06	0,5	-
HCl	1,1	15,6	8,4
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	1,5	0,15	0,6

Fonte: Brodkorb *et al.* (2019).

I) Fase oral

5 g da polpa de marolo foram pesados em balança analítica (Shimadzu AY 220, Kyoto, Japão) e adicionado de 4 mL de fluido salivar, 475 µL de água destilada e 25 µL de CaCl₂. Pesou-se 0,937 g de amilase suína (marca SIGMA-ALDRICH, São Paulo, Brasil) e diluiu em 15 mL de água destilada. Adicionou-se 500 µL de solução de amilase. Os tubos foram incubados em banho maria (Dubnoff CT-232, Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil) a 37 °C por 2 minutos com agitação de 80 rpm para simular as condições da digestão oral. Logo em seguida, a atividade enzimática foi cessada reduzindo rapidamente o pH para 3.0 e os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 80 rpm, a 4 °C.

II) Fase gástrica

Foram adicionados ao tubo resultante da fase anterior 8,5 mL de fluido gástrico, 5 µL CaCl₂ e ajustado o pH com HCL 5 M com volume de 80 µL subtraindo o volume de ácido adicionado de 995 µL de água.

Pesou-se 1,898 g de pepsina suína (marca SIGMA-ALDRICH, São Paulo, Brasil) e diluiu em 15 mL de água destilada. Adicionou-se 500 µL de solução de pepsina e em seguida os tubos foram incubados em banho maria com agitação (para simular os movimentos peristálticos ocorridos no estômago) a 37 °C por 2 horas a 80 rpm. Após esse período, cessou-se a atividade enzimática aumentando rapidamente o pH para 7,0.

III) Fase intestinal

Foram adicionados 8 mL de fluido intestinal, 40 µL CaCl₂ e ajustado o pH até 7 com NaOH 1 M. O volume de base adicionado foi subtraído de 3,96 mL de água, sendo o restante adicionado. Foram pesados 4,90 g de bile bovina, sendo diluída em 90 mL de fluido intestinal. Em seguida, foram adicionados 3 mL de solução de bile. Foram pesados 1,2 g de pancreatina suína e diluída em 150 mL de fluido intestinal. Adicionou-se 5 mL de solução de pancreatina aos tubos, que foram incubados em banho maria com agitação, para simulação dos movimentos intestinais, a 37 °C por 2 horas a 80 rpm. Cessou-se a atividade enzimática utilizando banho de gelo. Após o resfriamento, foi realizada a centrifugação e o volume dos sobrenadantes resultantes da digestão gastrointestinal foram coletados e congelados a uma temperatura média de -18°C até o momento das análises químicas de potencial antioxidante, compostos fenólicos flavonoides totais e de aminas.

O Índice de Bioacessibilidade (IB) de cada analito mencionado na polpa do marolo foi calculado, baseado na fórmula seguinte:

$$IB (\%) = Y/Z \times 100$$

sendo, Y é a fração bioacessível após a digestão *in vitro*, e Z é o teor total do composto na amostra.

O efeito da digestão *in vitro* no potencial antioxidante foi calculado baseado na mesma fórmula, sendo denominado como “índice de potencial antioxidante após a digestão *in vitro*” (IPAD). Na teoria, a bioacessibilidade é aplicada apenas para nutrientes ou compostos não-nutrientes, sendo o potencial antioxidante uma propriedade do alimento, o que justifica a necessidade de adaptação da nomenclatura.

4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) e umidade foram realizadas em triplicata. As determinações do potencial antioxidante, dos conteúdos de flavonoides totais e de fenólicos totais foram realizadas em triplicata e a análise de aminos bioativas em duplicata. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Para determinar a existência de diferenças significativas entre as etapas da digestão *in vitro*, os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para identificar quais grupos diferiram entre si por meio do *software* estatístico Minitab® 16.2.3.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMOSTRA

As análises de potencial hidrogeniônico, teor de umidade, acidez total titulável e sólidos solúveis totais foram realizadas com o intuito de auxiliar na caracterização da fruta, considerando a escassez de informações sobre o seu grau de maturação. Essa caracterização é importante para fornecer informações necessárias para a reprodução da pesquisa ou comparação de resultados, tendo como base os parâmetros utilizados.

5.1.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH observado na polpa do marolo foi equivalente a $4,41 \pm 0,05$, sendo este valor próximo ao relatado na literatura (SCHIASSI *et al.*, 2018). Segundo Schiassi *et al.* (2018), a polpa do marolo apresenta pH próximo ao das frutas buriti, cagaita e mangaba (pH 3.7– 4.6). De acordo com a classificação proposta pelo *Food and Drug Administration* (FDA), as polpas de frutas são consideradas muito ácidas (pH < 3.7); ácidas (pH 3.7– 4.6) e média acidez (pH 4.6 – 5.3) (SCHIASSI *et al.*, 2018); sendo assim, o pH da polpa do marolo (pH 4.41) é considerada ácida. Morais *et al.* (2017) relataram pH 4.45 na polpa de marolo, semelhante ao encontrado neste trabalho.

5.1.2 Teor de umidade

A partir da secagem em estufa da polpa do marolo, foi possível observar elevado teor de umidade na polpa da fruta, equivalente a $74,36 \pm 0,37$ g/100 g. Os resultados de Nascimento *et al.* (2020) sobre a caracterização química de frutas nativas do Cerrado do norte de Minas Gerais vão ao encontro do presente estudo onde a polpa de marolo apresentou um teor de umidade de 71,42%, valor muito próximo do que foi encontrado.

5.1.3 Acidez titulável

A polpa de marolo apresentou acidez titulável de $0,43 \pm 0,02$ g de ácido málico/100 g da polpa. A acidez titulável da polpa analisada foi inferior ao relatado no trabalho publicado por Schiassi *et al.* (2018), onde as polpas de buriti, cagaita, mangaba e marolo estavam próximas de 0,71 g ácido cítrico/100 g). Duarte *et al.* (2017) encontraram um maior valor (0,78 g de ácido málico/100 g), enquanto nos achados de Morais *et al.* (2017) e Pimenta *et al.* (2014), foram inferiores (0,30 e 0,37 g de ácido málico/100 g, respectivamente). Essas diferenças podem ser atribuídas ao estágio de maturação das frutas, o que exerce influência na acidez.

5.1.4 Sólidos solúveis

A média de SS encontrada na polpa foi de $15,67 \pm 0,06^\circ$ Brix. Valores semelhantes foram encontrados nos trabalhos descritos por Schiassi *et al.*, (2018) e Souza *et al.* (2012).

Roesler *et al.* (2007) encontraram teor médio de SS na polpa de marolo superior ao desta pesquisa ($19,01^\circ$ Brix). É importante salientar que o teor de SS depende do grau de maturação e é variável entre regiões, entre os cultivares e até mesmo entre as porções da mesma fruta.

Morais *et al.* (2017) relataram que não há Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para polpa de marolo. No entanto, para a polpa da graviola (*Annona muricata* L.), que pertence à mesma família do marolo, há PIQ estabelecido pela legislação (IN 37, 2018), o qual determina o valor mínimo de SS de 9° Brix (BRASIL, 2018).

5.1.5 Razão sólidos solúveis/ acidez titulável

A razão de sólidos solúveis/ acidez titulável (SS/AT) foi de 36,44. A razão encontrada foi superior ao observado por Morais *et al.* (2017) com resultado de 32,26 e inferior para os achados de Pimenta *et al.* (2014) com resultado médio de 52,23. Quanto maior a relação SS/AT, maior é o equilíbrio entre doce e ácido, tornando a fruta mais atrativa ao consumo *in natura*; pois a relação SS/AT é uma forma de avaliação de avaliação do grau de maturação para algumas frutas e do sabor, sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares e de acidez (PIMENTA *et al.*, 2014).

5.1.6 Cor

Foram encontrados para as coordenadas cromáticas $13,2 \pm 0,7$ e $53,7 \pm 1,5$ para a^* , coordenada vermelho/verde; e b^* , coordenada amarelo/azul, respectivamente. Quanto ao ângulo Hue (h^*), o mesmo valor foi encontrado nos estudos de Nascimento *et al.* (2020) e valor semelhante para (L^*), enquanto os valores observados para saturação (C^*) mostraram 6,5 vezes superior e $\sim 1,2$ vezes maior nos estudos de Morais *et al.* (2017). Foi visto resultado semelhante na magnitude dos parâmetros de a^* e aumento de $\sim 1,7$ vezes para b^* quando comparadas com os resultados de Morais *et al.*, (2017). A polpa do marolo possui pouca coloração vermelha e considerável coloração amarela, vistos em a^* e b^* . O valor amarelo refere-se ao a^* mais próximo do ângulo de 90° e b^* mais próximo do ângulo de 270° . O parâmetro b^* demonstrou valores positivos superiores em comparação com valor de a^* , onde se fez a percepção tendendo para a cor amarela da polpa.

5.2 POTENCIAL ANTIOXIDANTE, FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS NA POLPA DO MAROLO

Na tabela 2 estão apresentados os resultados encontrados para o potencial antioxidante, e dos compostos fenólicos e flavonoides totais.

Tabela 2 – Potencial antioxidante pelo método ABTS•+ (ET $\mu\text{mol/g}$), DPPH (ET $\mu\text{mol/g}$), e teores de fenólicos totais (mg EAG/g) e flavonoides Totais (mg EC/g) na polpa do marolo (em base úmida)

Ensaio	Amostra da polpa do marolo
ABTS•+ (ET $\mu\text{mol ET/g}$)	$66,15 \pm 5,96$
DPPH (ET $\mu\text{mol ET/g}$)	$65,94 \pm 4,23$
Fenólicos Totais (EAG mg EAG/g)	$9,16 \pm 0,36$
Flavonoides Totais (mg EC mg/g)	$7,26 \pm 0,37$

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Legenda: ET= Equivalentes de Trolox ($\mu\text{mol/g}$). EAG= Equivalentes de Ácido Gálico (mg/g). EC= Equivalentes de Catequina(mg/g). Resultados expressos em médias \pm desvios padrão

Quanto à captura do radical ABTS^{•+}, a polpa do marolo apresentou valores ~2,8 vezes inferior à capacidade antioxidante observada por Stafussa *et al.* (2021) em extratos de purê da fruta, expressos em base seca, 184,81 µmol ET/g e pelo método DPPH, valores ~2,3 vezes inferior com 150,13 µmol ET/g.

Souza *et al.* (2012) determinaram a capacidade antioxidante pelo método ABTS^{•+} em frutas do Cerrado brasileiro, como marolo, murici, jenipapo, graviola e maracujá doce. Os autores encontraram potencial antioxidante na polpa de marolo ~2 vezes maior (131,58 µmol ET/g, em base fresca) ao determinado neste trabalho. No entanto, as demais frutas analisadas apresentaram menor potencial antioxidante com 57,25 µmol ET/g para murici (1,1 vezes menor), 7,31 µmol ET/g para jenipapo (9 vezes menor), 35,95 µmol ET/g para graviola (1,8 vezes menor) e 10,84 ET µmol/g para maracujá (6,1 vezes menor) quando comparadas ao marolo adquirido em Machado, MG.

O potencial antioxidante obtido para a polpa de marolo pelo método de ABTS foi superior ao relatado para murici, mangaba, fruta-do-conde e graviola, obtidos no Nordeste do Brasil, cujos valores foram de 15,73; 10,84; 6,21 e 6,09 µmol ET/g, respectivamente. Os resultados encontrados pelo método DPPH também foram superiores para as mesmas frutas, que apresentaram 6,46, 5,27, 0,68 e 1,36 µmol ET/g, respectivamente (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Vale ressaltar que o potencial antioxidante está relacionado com a defesa antioxidante natural em frutas e hortaliças através de três grupos principais: ácido ascórbico, compostos fenólicos como antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como antioxidantes lipofílicos. Sendo assim, a atividade antioxidante das frutas pode ser afetada por vários fatores, incluindo aspectos ambientais, amadurecimento, variedade, efeitos sinérgicos e antagônicos entre eles e método de extração (SILVA *et al.*, 2020b).

Os métodos ABTS^{•+} e DPPH determinam o potencial antioxidante a partir de um mesmo mecanismo de ação, a neutralização de radicais livres. No entanto, o ABTS^{•+} é mais sensível para compostos hidrofílicos, enquanto o DPPH é mais adequado para analisar a atividade de compostos hidrofóbicos (VO *et al.*, 2022).

Segundo Rahman *et al.* (2022), uma dieta rica em antioxidantes ajuda a reduzir os efeitos adversos do envelhecimento. Vários estudos têm sugerido que uma combinação de alimentos ricos em antioxidantes e compostos fenólicos provenientes de frutas podem ser agentes antienvhecimento eficazes devido aos

efeitos anticâncer, cardioprotetores, na redução do estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas.

O teor de fenólicos totais encontrados neste trabalho foi superior ao apresentado pela polpa de marolo Schiassi *et al.* (2018) (7,28 mg EAG/g), por Nascimento *et al.* (2020) (4,34 mg EAG/g), por Seixas *et al.* (2021) (2,58 mg EAG/g) e Moraes *et al.* (2018) (2,22 mg GAE/g), todos expressos em base úmida. No entanto, Stafussa *et al.* (2018) relataram conteúdo de fenólicos totais similares ao encontrado nesta pesquisa (9,02 mg EAG/g em base úmida). Comparativamente com outras frutas nativas do Cerrado, como o buriti, a cagaita, o cajá e o coquinho, a polpa de marolo apresenta teores de compostos fenólicos totais superiores, em cerca de 10; 6,4; 15,8 e 5,3 vezes (NASCIMENTO *et al.*, 2020).

Para servir de comparação e classificar a quantidade de compostos fenólicos totais, Vasco *et al.* (2008) classificaram 17 frutas do Equador em três categorias de concentração: baixa (<100 mg EAG/100 g), média (100–500 mg EAG/100 g), e alta (>500 mg EAG/100 g) em base seca. Baseado nessa classificação, o marolo seria considerado como fruta possuindo alto conteúdo de compostos fenólicos.

Os teores de compostos fenólicos totais nas frutas variam com a espécie, região de cultivo, grau de maturação, época da colheita, estação do ano, presença de estresse abiótico ou mesmo de fitopatologias (NASCIMENTO, 2020). Além desses fatores, Arruda, Pereira e Pastore (2017) relataram que a metodologia analítica e obtenção dos extratos devem ser consideradas, como a composição do solvente, temperatura e tempo de extração.

Os teores de flavonoides totais encontrados neste trabalho foram ~1,3 vezes superior ao relatado por Siqueira *et al.* (2013) (5,49 mg EC/g). Comparativamente com outras frutas do Cerrado brasileiro, o teor encontrado foi similar ao do tucum com 7,16 mg EC/g e muito superior à cagaita (0,03 mg EC/g), à mangaba (0,02 mg EC/g) e à guariroba (0,038 mg EC/g), por exemplo. Em contrapartida, o resultado apresentado nessa pesquisa foi 1,8 vezes inferior ao encontrado por Arruda *et al.* (2018b), com 13,51 mg EC/g.

Os flavonoides foram os compostos fenólicos mais abundantes (~86%) na polpa de marolo. Assim sendo, cresce o interesse nesses compostos correlacionando o consumo com a redução da incidência e mortalidade por doenças cardiovasculares e câncer (ARRUDA *et al.*, 2017).

5.3 AMINAS BIOATIVAS NA POLPA DE MAROLO

Dentre as dez aminos investigadas (putrescina, cadaverina, agmatina, espermidina, espermina, 2-feniletilamina, serotonina, triptamina, histamina e tiramina), apenas três foram detectadas na polpa de marolo (Tabela 3). Pode-se perceber que a monoamina tiramina foi a predominante, seguida pela diamina putrescina e, por fim, pela poliamina espermidina.

Tabela 3 – Teores de aminos bioativas detectadas na polpa do marolo

Aminas bioativas	Valor detectado (mg/kg)	Aminas bioativas	Valor detectado (mg/kg)
Putrescina	20,65 ± 1,06	2-feniletilamina	nd
Cadaverina	nd	Serotonina	nd
Agmatina	nd	Triptamina	nd
Espermidina	6,32 ± 0,59	Histamina	nd
Espermina	nd	Tiramina	31,97 ± 0,52

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Legenda: nd: não detectada. Limite de detecção igual a 0,14 mg/kg.

Não foram encontrados outros estudos identificando as aminos bioativas no marolo. Sendo assim, ao avaliar os teores de aminos livres em frutas tropicais, a putrescina e espermidina foram as mais recorrentes e em maiores teores. O marolo apresentou teor de putrescina superior ao da manga (0,09 mg/100 g), abacaxi (0,11 mg/100 g), mamão (1,01 mg/100 g), goiaba (0,10 mg/100 g) e maracujá (1,79 mg/100 g). Também apresentou maior concentração de espermidina do que o relatado na literatura para manga (0,46 mg/100 g), mamão (0,54 mg/100 g) e goiaba (0,38 mg/100 g) e um teor similar comparado ao abacaxi (0,70 mg/100 g) e um teor menor quando comparado ao maracujá (3,05 mg/100g) (SANTIAGO-SILVA; LABANCA; GLÓRIA, 2011).

Dala Paula *et al.* (2021b) relataram que a putrescina foi encontrada nas partes comestíveis de 12 vegetais diferentes, típicos da culinária brasileira (brócolis, couve-flor, berinjela, jiló, tomate, cebolinha, salsa, espinafre, alcaparras, mandioca, palmito e broto de feijão). Os teores médios encontrados no marolo foram superiores a todos eles, com exceção da berinjela (~21,3 mg/kg) e broto de feijão (~31,9 mg/kg), que

apresentaram teores superiores. O aumento da putrescina em diversas espécies vegetais pode ocorrer em resposta às condições de cultivo (DALA PAULA *et al.*, 2021b). Reis *et al.* (2020a) relatam que a diminuição do conteúdo de putrescina em alimentos pode ser desejável do ponto de vista sensorial, considerando que esta é uma amina volátil com potencial de conferir sabor e odor pútrido.

Ao detectar a espermidina em todas as variedades de cogumelos, com maior teor na variedade Shimeji Negro, Reis *et al.* (2020b) relataram valor de 12,4 mg/100 g, muito superior ao encontrado na polpa de marolo. Os níveis de espermidina que foram encontrados nos cogumelos os classificam como fontes de poliaminas, o que é valorizado devido à sua associação com o crescimento, promoção da saúde e propriedades antioxidantes.

Uma dieta rica em espermidina pode contribuir com a longevidade humana, devido aos efeitos protetores contra doenças cardíacas e declínio cognitivo associado ao envelhecimento, observados por meio de pesquisas com animais (BAE *et al.*, 2018; FILFAN *et al.*, 2020; MADEO *et al.*, 2018). Além disso, a espermidina está envolvida no crescimento, renovação e metabolismo celular (DALA-PAULA *et al.*, 2021b). Apesar de todos os efeitos benéficos da espermidina, o seu consumo não é indicado para pacientes com tumores já estabelecidos, pelo fato de estimular a divisão e o crescimento celular (KALAC, 2014). Sendo assim, pacientes oncológicos não devem ser expostos a dietas com altos níveis de poliaminas.

A tiramina é uma amina neuroativa e vasoativa (ADÃO; GLÓRIA, 2005). Em baixas concentrações pode exercer papéis importantes, como neuromodulação e efeitos de elevação do humor (REIS *et al.*, 2020b). Os teores de tiramina na polpa de marolo não causariam efeitos tóxicos em indivíduos saudáveis, que não esteja em uso de IMAO (NOAEL= 600 mg/ refeição) e dificilmente, naqueles em uso de IMAO da terceira geração (NOAEL= 50 mg/refeição). No entanto, o consumo de aproximadamente 1 xícara (200 g) da polpa em uma refeição (31,97 mg/kg ou ~3,2 mg/100 g), atingiria o NOAEL de tiramina (6,0 mg/refeição) para indivíduos sensíveis a esta monoamina (em uso de IMAO clássicos) (DALA-PAULA *et al.*, 2021a; EFSA, 2011). Esta é uma constatação importante sobre o marolo, até o momento, pouco relatada na literatura científica. O consumo de marolo, fruta rica em compostos bioativos, pode induzir crises de enxaqueca e elevar a pressão arterial em determinados grupos populacionais, com necessidades especiais.

A tiramina foi detectada em cogumelos frescos (5,98 mg/100 g) em teores superiores aos identificados na polpa de marolo (REIS *et al.*, 2020b). Por outro lado, teores inferiores foram quantificados em berinjela (0,27 mg/100 g), jiló (0,18 mg/100 g), cebolinha verde (0,51 mg/100 g), salsinha (0,16 mg/100 g), espinafre (0,51 mg/100 g) e palmito (0,23 mg/100 g) (DALA-PAULA *et al.*, 2021b).

5.4 EFEITO DA DIGESTÃO NO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E

BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS BIOATIVOS NA POLPA DO MAROLO

5.4.1 Efeito da digestão *in vitro* nos compostos fenólicos e potencial antioxidante

Na tabela 4 estão apresentados os resultados encontrados no estudo de bioacessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais e o efeito da digestão simulada no potencial antioxidante presente na polpa de marolo.

O potencial antioxidante determinado pelo método ABTS•+ aumentou ~1,61 vezes da digestão oral para a gástrica, permanecendo similar ao final da digestão intestinal. Comportamento semelhante foi percebido com o potencial antioxidante determinado pelo método DPPH, que aumentou ao final da digestão oral para o final da gástrica em ~2,18 vezes, diferindo por apresentar novo aumento de ~1,33 vezes ao completar a digestão intestinal, comparado com a etapa anterior.

Tabela 4 – Bioacessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais e efeito da digestão *in vitro* sobre o potencial antioxidante de polpa do marolo

Amostras/ etapa	PA – ABTS•+ (ET μ mol/g)	PA – DPPH (ET μ mol /g)	Fenólicos Totais (mg EAG/g)	Flavonoides Totais (mg EC/g)
Polpa	66,15 \pm 5,96 ^a	65,94 \pm 4,23 ^a	9,16 \pm 0,36 ^a	7,26 \pm 0,37 ^a
Oral	15,60 \pm 1,69 ^c	10,86 \pm 0,60 ^d	1,84 \pm 0,20 ^b	1,42 \pm 0,27 ^c
Gástrica	25,09 \pm 1,62 ^b	23,67 \pm 0,55 ^c	1,90 \pm 0,20 ^b	1,65 \pm 0,16 ^b
Intestinal	23,39 \pm 3,25 ^b	31,39 \pm 1,57 ^b	2,00 \pm 0,12 ^b	1,28 \pm 0,19 ^c

Tabela 4 – Bioacessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais e efeito da digestão *in vitro* sobre o potencial antioxidante de polpa do marolo (conclusão)

IB* ou IPAD** (%)	35,35	47,60	21,83	17,63
-------------------	-------	-------	-------	-------

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Legenda: PA: potencial antioxidante; ET= equivalentes de trolox ($\mu\text{mol/g}$); EAG= equivalentes de ácido gálico (mg/g); EC= equivalentes de catequina (mg/g); IB: índice de bioacessibilidade; IPAD: índice de potencial antioxidante após digestão *in vitro*; *calculado para fenólicos e flavonoides totais **calculado para potencial antioxidante pela técnica ABTS e DPPH. Médias \pm desvios padrão seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Considerando que o método de DPPH é mais sensível para compostos antioxidantes hidrofóbicos, pode-se inferir que a digestão intestinal aumentou a bioacessibilidade de compostos com essas características, possivelmente pela ação emulsificante da bile, favorecendo a extração desses compostos da matriz alimentícia. O efeito do aumento na propriedade antioxidante ser identificado pelo método de DPPH, o que não aconteceu com o método de ABTS. Considerando a hipótese apresentada, pode-se dizer que parte significativa dos compostos hidrossolúveis com atividade antioxidante já estavam livres na polpa do marolo ao final da digestão gástrica, não apresentando aumento a partir de então.

Barba *et al.* (2017) relataram que a capacidade antioxidante de compostos não absorvidos pode ser importante ao intestino delgado e grosso, uma vez que esses órgãos estão constantemente expostos a radicais livres resultando das células imunes em resposta à sua ativação por bactérias da dieta ou toxinas. Assim, compostos com atividade antioxidante e baixa bioacessibilidade podem ser importantes no trato gastrointestinal, mantendo o equilíbrio redox e consequentemente prevenindo o desenvolvimento de doenças gastrointestinais relacionadas à geração de radicais livres durante o processo de digestão.

Para verificar o efeito da digestão *in vitro* sobre o potencial antioxidante foi realizado o cálculo semelhante ao do índice de bioacessibilidade. Seu valor foi de 35,35% para o ensaio de ABTS•+ e 47,60% para o ensaio de DPPH.

Os resultados de uma pesquisa sobre o efeito da digestão simulada *in vitro* (com metodologia diferente do INFOGEST) sobre o potencial antioxidante, também determinado pelo método do ABTS, em polpa de fruta da mesma família do marolo, o araticum (*Annona marcgravii*), em mamão (*Carica papaya*) e jaca (*Artocarpus*

heterophyllus) indicou valores finais de 16,48, 3,83 e 3,18 $\mu\text{mol ET/g}$, respectivamente (PAVAN; SANCHO; PASTORE, 2014). Todas as frutas apresentaram potencial antioxidante após a digestão simulada inferior ao observado para o marolo nesta pesquisa, no entanto, houve aumento aproximado de 11,6 e 5,7 vezes para o araticum e jaca, respectivamente e redução próxima de 0,86 vezes para o mamão quando comparado com o potencial antioxidante determinado no extrato químico da fruta antes da digestão. Contudo, é importante destacar que o método de digestão simulada foi diferente do aplicado neste trabalho, sendo o tempo de incubação na digestão gástrica de apenas 1 hora nos achados de Pavan, Sancho e Pastore (2014).

5.4.2 Bioacessibilidade de compostos fenólicos e flavonoides totais na polpa de marolo

Ao final da digestão oral, os teores de compostos fenólicos não apresentaram incremento ou redução significativa ao longo das demais etapas digestivas. A extração química da polpa de marolo, por meio de mistura de solventes orgânicos foi significativamente superior ao conteúdo encontrado ao final da digestão, sendo ~4,6 vezes superior. Segundo Koehnlein *et al.* (2016) e Stafussa *et al.* (2021), uma pequena fração dos compostos bioativos é extraída da matriz alimentar durante a digestão gastrointestinal, representando a fração bioacessível. Compostos fenólicos são facilmente degradáveis no ambiente gastrointestinal, onde podem ser metabolizados em compostos com diferentes propriedades, resultando em menor bioacessibilidade. No entanto, parece não haver consenso sobre isso, considerando que Pinacho *et al.* (2015) reportaram que os compostos fenólicos presentes em frutas podem ser resistentes a alteração de pH e hidrólise enzimática.

A redução do teor de compostos fenólicos da fração digerida de outras frutas do Cerrado, como a uvaia, foi observada por Farias *et al.* (2021). Os autores relataram bioacessibilidade de 59% ao final da digestão simulada. Isso pode estar associado a diferentes fatores, dentre eles a relativa solubilidade dos compostos fenólicos ao meio aquoso, a possível instabilidade devido às alterações do pH ao longo da digestão, às interações com outros compostos liberados durante o processo digestivo e a própria viscosidade do resíduo digerido, que poderia ter retido os compostos fenólicos. Por exemplo, as fibras liberadas durante o processo de

digestão, a exemplo da pectina, poderiam geleificar durante a digestão intestinal, interagindo com os fenólicos e diminuindo a sua bioacessibilidade. Um teor de pectina de 4% é suficiente para promover a formação de gel em condições ácidas, o que poderia explicar a diminuição do teor de compostos fenólicos na fase gástrica.

Este mesmo comportamento foi observado em frutas com altas quantidades de pectina, que apresentaram menor liberação de compostos fenólicos após a digestão gástrica (SOLLANO-MENDIETA *et al.*, 2021).

Outra hipótese que pode ser levantada nessa pesquisa para justificar a manutenção dos teores de fenólicos totais ao longo das etapas da digestão, apesar da contínua digestão da fruta, envolve a presença de enzimas dos grupos polifenol-oxidases e peroxidases. Essas enzimas, naturalmente presentes em muitas frutas e hortaliças podem ter contribuído com a oxidação de compostos fenólicos, que eram liberados, principalmente durante as etapas oral e intestinal, uma vez que o pH estava próximo da neutralidade. A faixa de pH ótimo das polifenol-oxidases em atemoia (fruta da família *Annonaceae*) é de 5,0 a 7,0; e de 6,0 e 7,0 para a peroxidase (LAMBRECHT, 1995), o que reforça a hipótese levantada.

Outras possibilidades seriam pelas perdas de fenólicos, a partir de interações com outros nutrientes não digeridos da fruta, como proteínas, carboidratos residuais, ou mesmo os minerais (GIL-IZQUIERDO *et al.*, 2002; KROLL *et al.*, 2003; LUCAS-GONZÁLEZ *et al.*, 2018a).

Segundo Barba *et al.* (2017), os flavonoides β -glicosilados são absorvidos apenas em quantidades mínimas no intestino delgado e se uma molécula de açúcar estiver ligada ao flavonoide, o composto deve atingir o intestino para que as porções de açúcar sejam hidrolisadas para serem transportadas para as células epiteliais intestinais e, assim, serem possivelmente absorvidas. O IB para os compostos fenólicos totais foi inferior a $\frac{1}{4}$ do total desses compostos presentes na polpa do marolo.

Considerando os flavonoides, o conteúdo aumentou $\sim 1,16$ vezes do final da digestão oral para a gástrica ($p \leq 0,05$). No entanto, apresentou redução de $\sim 22,4\%$ ao final da digestão intestinal, quando comparado à gástrica. O IB para os flavonoides totais foi inferior ao dos compostos fenólicos totais, representando menos de 20% do total quantificado no extrato da polpa de marolo, antes da digestão. IB de flavonoides totais semelhante (17,6%) foi relatado para a siriguela

(DUTRA et al., 2017), enquanto valores superiores (34,4%) foram encontrados no umbu (*Spondias tuberosa* A.) (CANGUSSU et al., 2021).

A transição do ambiente gástrico, caracterizado pelo meio ácido, para o intestinal, levemente alcalino, pode ter sido responsável pela redução nos teores de flavonoides devido à instabilidade desses compostos ao pH intestinal (BOUAYED et al., 2011). Essa instabilidade foi demonstrada por Peixoto et al. (2016), que observaram que a bioacessibilidade de outros grupos de fenólicos, como as antocianinas de jabuticaba, diminuiu de 45% no ambiente gástrico para 10% no ambiente intestinal. Além disso, o retorno ao pH 7,0, no início da digestão intestinal é ideal para a ação das enzimas polifenol-oxidases e peroxidases, naturalmente presentes na polpa do marolo.

Ao contrário dos achados desse trabalho, ao avaliar a bioacessibilidade gastrointestinal e bioatividade de compostos fenólicos da fruta araçá-boi, o conteúdo de flavonoides totais aumentou significativamente de 49,9% da fase gástrica para 92,8% para a fase intestinal (ARAÚJO et al., 2021).

Vale ressaltar que a bioacessibilidade de compostos bioativos pode estar relacionada às suas características físico-químicas, tamanho e estrutura da molécula, grau de polimerização e conjugação com outros compostos (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014). As características da matriz alimentar como umidade, acidez inicial (MENNAH-GOVELA et al., 2020) e o próprio formato e o tamanho do alimento analisado também podem interferir na bioacessibilidade dos seus componentes (MENNAH-GOVELA; BORNHORST, 2021). Sollano-Mendieta et al. (2021) também ressaltaram que os flavonoides possuem capacidade de se ligarem às proteínas ou fibras por meio de ligações de hidrogênio, ligações covalentes ou interações hidrofóbicas.

5.5 BIOACESSIBILIDADE DE AMINAS NA POLPA DE MAROLO

O resultado do ensaio de bioacessibilidade das aminas bioativas na polpa do marolo está representado na tabela 5.

Tabela 5 – Bioacessibilidade das putrescina, espermidina e tiramina na polpa do marolo

Amostras	Teores de aminas (mg/kg)		
	Putrescina	Espermidina	Tiramina
Polpa	20,65 ± 1,06 ^a	6,32 ± 0,59 ^a	31,96 ± 0,51 ^a
Oral	6,69 ± 0,70 ^c	0,29 ± 0,10 ^c	16,52 ± 2,33 ^b
Gástrica	11,55 ± 0,74 ^b	3,57 ± 0,69 ^b	16,31 ± 0,38 ^b
Intestinal	12,27 ± 0,21 ^b	2,29 ± 0,09 ^b	28,63 ± 4,81 ^a
IB (%)	59,4	36,75	89,58

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Legenda: IB: índice de bioacessibilidade. Médias ± desvios padrão seguidos pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com o avançar das etapas da digestão gastrointestinal, as aminas putrescina, tiramina e espermidina se tornaram mais bioacessíveis. Os teores de putrescina e espermidina livres aumentaram ao final da digestão oral para o final da digestão gástrica ($p \leq 0,05$), permanecendo similar ao final da digestão gástrica ($p \geq 0,05$). O comportamento da espermidina pode ser justificado devido ao fato de quando estão ionizadas são mais solúveis em meio ácido. Em meio ácido, as poliaminas tendem a se encontrar na forma protonada, com carga positiva, o que aumenta a sua solubilidade em solução aquosa e, conseqüentemente, sua liberação da polpa do marolo (LI, BEUERMAN; VERMA, 2020; RUIZ-CHICA *et al.*, 2005). Isso pode ter sido importante para o aumento significativo do teor de espermidina livre após a digestão oral e gástrica. Por outro lado, os teores de tiramina, permaneceram similares entre as digestões oral e gástrica ($p \geq 0,05$), com aumento significativo após a digestão intestinal ($p \leq 0,05$). Considerando que na etapa da digestão intestinal há a atuação da bile, auxiliando a emulsificação de lipídios e a extração de compostos mais hidrofóbicos, como a tiramina que possui solubilidade em água de 1,0 g/95 mL a 15 °C (CHEMWHAT, 2022), justifica-se o aumento da sua extração da polpa de marolo. O IB das aminas detectadas na polpa de marolo (putrescina, espermidina e tiramina) foi de 59,4%, 36,8% e 89,6%, respectivamente.

Reis *et al.* (2020a) determinaram a bioacessibilidade de espermidina em cogumelo *Agaricus bisporus* fresco, enlatado e cozido. Os autores verificaram que após a digestão gastrointestinal simulada, os teores não diferiram significativamente daquele obtido pelo extrato inicial. Os resultados apontaram que esta poliamina foi totalmente bioacessível nos cogumelos analisados. Os teores médios de espermidina do cogumelo foram ~32,3 vezes superiores ao teor encontrado na polpa de marolo.

Dentre várias aminas bioativas detectadas por Dala-Paula *et al.* (2021a) em um estudo bioacessibilidade de chocolate amargo com 70% de massa de cacau, após a digestão gastrointestinal *in vitro*, as aminas tiramina e espermidina apresentaram aumento de 8,7 vezes e 5,9 vezes, respectivamente. Os autores sugeriram que as condições da digestão possam ter rompido possíveis conjugações das aminas com outros componentes do chocolate, incluindo os flavonoides. Além disso, os resultados permitem inferir que a extração química utilizando solução de ácido tricloroacético a 5% (p/v) não tenha recuperado os teores totais de aminas presentes no chocolate amargo 70% de massa de cacau.

Dala-Paula *et al.* (2021a) verificaram aumento significativo (~1,8 vezes) de putrescina ao final da digestão intestinal, quando comparado com o final da digestão oral. Aumento similar foi encontrado na polpa de marolo, que apresentou incremento de ~1,83 vezes ao final da digestão intestinal quando comparado com o final da primeira etapa digestiva.

É importante destacar que em condições *in vivo*, as aminas podem ser formadas pela atividade de enzimas descarboxilases, produzidas por diferentes espécies e cepas de micro-organismos da microbiota intestinal, sob aminoácidos livres, cujo teor seria aumentado (FERNÁNDEZ-REINA *et al.*, 2018). No entanto, o ensaio de bioacessibilidade realizado, não permite analisar essas possíveis ocorrências. Além disso, as condições fisiológicas do trato gastrointestinal (pH do meio, contração peristáltica, presença de desordens ou patologias) podem afetar significativamente a bioacessibilidade e biodisponibilidade de nutrientes e não nutrientes dos alimentos (PAVAN; SANCHO E PASTORE, 2014).

A putrescina tem um efeito citotóxico dose-dependente para células intestinais, no entanto a literatura não contém dados de dose-resposta em humanos para putrescina de origem alimentar. O efeito necrótico da putrescina sobre as culturas de células intestinais HT29 pode ser explicado por sua natureza

policatiônica em pH fisiológico; isso pode permitir que ela interaja com fosfolípidios (de natureza aniônica) e desestabilize as membranas celulares. Também não se deve esquecer que a toxicidade da putrescina pode ser aumentada em certos como resultado de uma capacidade reduzida de metabolização (através do comprometimento genético ou adquirido pelo comprometimento da atividade de enzima diamino-oxidases). Crianças, pacientes idosos com doenças gastrointestinais e indivíduos em uso de inibidores de diamino-oxidase também podem ser mais sensíveis (DEL RIO *et al.*, 2019). Por outro lado, probióticos mediados por putrescina afetavam a longevidade por retardar a senescência em células colônicas e inibem a indução de 1,2-dimetilhidrazina na gênese do tumor de cólon (HUANG *et al.*, 2020).

Atualmente, não há recomendações oficiais para a ingestão diária de poliaminas, mas alguns pesquisadores sugerem uma ingestão em torno de 540 $\mu\text{mol}/\text{dia}$, levando em consideração as diretrizes de uma dieta saudável que promova um alto consumo de frutas, verduras e cereais (MUÑOZ-ESPARZA *et al.*, 2019).

Sugere-se a realização de pesquisas futuras envolvendo a avaliação do efeito de diferentes processamentos da polpa de marolo na bioacessibilidade de compostos bioativos e em suas propriedades funcionais em potencial.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ensaio de bioacessibilidade do marolo indicou valores próximos de 22% e 18% para fenólicos e flavonoides totais, respectivamente, sendo que não houve diferença significativa no conteúdo de fenólicos ao longo das etapas digestivas. Por outro lado, o conteúdo de flavonoides alcançou um pico ao final da digestão gástrica ($p \leq 0,05$), reduzindo ao final da digestão gástrica para níveis semelhantes aos observados após a digestão oral ($p \geq 0,05$).

A digestão gastrointestinal simulada afetou significativamente o potencial antioxidante da polpa da fruta, com redução aproximada de 65 e 52% para os valores obtidos pelos métodos de neutralização do radical ABTS e DPPH, respectivamente.

As aminas bioativas putrescina, tiramina e espermidina foram encontradas na polpa do marolo. A tiramina apresentou o maior índice de bioacessibilidade, próximo a 90%, seguido da putrescina e espermidina, com aproximadamente 59 e 37%. A fruta se apresentou como uma importante fonte de espermidina, assim como de tiramina. Dada a importância das poliaminas para a longevidade, o consumo da fruta pode ser incentivado, com cautela aos indivíduos sensíveis à tiramina ou em uso de medicamentos inibidores da MAO, clássicos de terceira geração.

REFERÊNCIAS

- ADÃO, R. C.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of prata banana (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*). **Food Chemistry** [s. l.], v. 90, p. 705–711, 2005.
- ADEFEGHA, S. A. Functional Foods and Nutraceuticals as Dietary Intervention in Chronic Diseases; Novel Perspectives for Health Promotion and Disease Prevention. **Journal of Dietary Supplements**. London, v.15, p. 977–1009, 2018.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**. Amsterdam, v. 4, p. 200–214, 2021.
- ALMEIDA, M. M. B.; SOUZA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M.C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E.C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**. Essex, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- ALMEIDA, H. **A difícil relação entre o envelhecimento biológico e a doença. Envelhecimento, saúde e doença. Novos desafios para a prestação de cuidados a idosos**. Lisboa: Coisas de Ler, 2014.
- ANDERSEN, G.; MARCINECK, P.; SULZINGER, N.; SCHIEBERLE, P.; KRAUTWURST, D. Food sources and biomolecular targets of tyramine. **Nutrition Reviews**. New York, v. 77, n. 2, p. 107–115, 2018.
- ARAÚJO, A. C. M. A.; MENEZES, E. G. T.; TERRA, A. W. C.; DIAS, B. O.; OLIVEIRA, E. R.; QUEIROZ, F. Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits wastes: pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. **Food Science and Technology**. London, v. 38, p. 203–214, 2018.
- ARAÚJO, F. F.; FARIAS, D. P.; NERI-NUMA, I. A.; DIAS-AUDIBERT, F. L.; DELAFIORI, J.; SOUZA, F. G.; CATHARINO, R. R.; SACRAMENTO, C. K.; PASTORE, G. M. Gastrointestinal bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds from araçá-boi fruit. **LWT - Food Science and Technology**. London, v.135, n. 110230, p. 1–7, 2021.
- ARRUDA, H. S., PEREIRA, G. A., & PASTORE, G. M. Optimization of extraction parameters of total phenolics from *Annona crassiflora* Mart. (araticum) fruits using response surface methodology. **Food Analytical Methods**. New York, v. 10, n. 1, p.100–110, 2017.
- ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Brazilian Cerrado fruit araticum (*Annona crassiflora* Mart.) as a potential source of natural antioxidant compounds. **International Food Research Journal**. Serdang, v. 25, p. 2005–2012, 2018a.
- ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; MORAIS, D. R.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M. Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) and its by-products by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**. Barking, v. 245, p. 738–749, 2018b.

ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Araticum (*Annona crassiflora Mart.*) as a source of nutrients and bioactive compounds for food and non-food purposes: A comprehensive review. **Food Research International**. Essex, v. 123, p. 450–480, 2019.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.

AWANG, H.; MANSOR, N.; PENG, T. N.; OSMAN, N. A. N. Understanding ageing: fear of chronic diseases later in life. **Journal of International Medical Research**. Northampton, v. 46, p. 175–184, 2018.

BAE, D. H.; LANE, D. J. R.; JANSSON, P. J.; RICHARDSON, D. R. The old and new biochemistry of polyamines. **General subjects**. Amsterdam, v.1862, n. 9, p. 2053–2068, 2018.

BAILÃO, E. F. L.C.; DEVILLA, I.A.; CONCEIÇÃO, E. C.; BORGES, L. L. Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal of Molecular Sciences**. Basel, v. 16, p. 23760–23783, 2015.

BARBA, F. J.; MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z.; BARBOSA-CÁNOVA, G. V.; ORLIEN, V. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science & Technology**. Cambridge, v. 67, p. 195–206, 2017.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science & Technology**. Cambridge, v. 6, p. 341–346, 1995.

BARDÓCZ, S.; DUGUID, T. J.; BROWN, D. S.; GRANT, G.; PUSZTAI, A.; WHITE, A.; RALPH, A. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. **British Journal of Nutrition**. London, v.73, p. 819–828, 1995.

BEARD J.R.; OFFICER, A.; CARVALHO, I. A.; SADANA, R.; POT, A. M.; MICHEL, J. P.; LLOYD-SHERLOCK, P.; EPPING-JORDAN, J. E.; PEETERS, G. M. E. E.; MAHANANI, W. R.; THIYAGARAJAN, J. A.; CHATTERJI, S. The World report on ageing and health: a policy framework for healthy ageing. **Health Policy**. Amsterdam, v. 387, p. 2145–2154, 2016.

BEKEBREDE, A. F.; KEIJER, J.; GERRITS, W. J. J.; BOER, V. C. J. The Molecular and Physiological Effects of protein-derived polyamines in the intestine. **Nutrients**. Basel, v. 12, p. 12–197, 2020.

BOATENG, J.; VERGHESE, M.; WALKER, L.T.; OGUTU, S. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp. L.*). **LWT - Food Science and Technology**. London, v. 41, p. 1541–1547, 2008.

BOUAYED, J.; LUCIEN HOFFMANN, L.; BOHN, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. **Food Chemistry**. Barking, v. 128, n. 1, p.14–21, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 1 de outubro de 2018. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 out. 2018. Seção I, p. 23.

BRODKORB, A. *et al.* INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature protocols**. London, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.

CAMPISI, J.; KAPAHI, P.; LITHGOW G. J.; MELOV, S., NEWMAN, J. C.; VERDIN, E. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. **Nature**. London, v. 571, p. 183–192, 2019.

CANGUSSU, L. B.; FRONZA, P., FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Chemical characterization and bioaccessibility assessment of bioactive compounds from umbu (*Spondias tuberosa* A.) Fruit peel and pulp flours. **Foods**. Basel, v. 10, p. 155–171, 2021.

CARBONELL-CAPELLA, J. M.; BUNIOWSKA, M.; BARBA, F. J.; FRÍGOLA, A. E. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Chicago, v. 13, n. 2, p. 155–171, 2014.

CARDOSO, L. M.; OLIVEIRA, D. S.; BEDETTI, S. F.; MARTINO, H. S. D.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) from the Brazilian Cerrado: chemical composition and bioactive compounds. **Fruits**. Cambridge, v. 68, n. 2, p. 121–134, 2013.

CASCAES, M. M.; CARNEIRO, O. S.; NASCIMENTO, L. D.; MORAES, A. A. B.; OLIVEIRA, M. S.; CRUZ, J. N.; GUILHON, G. M. S. P.; ANDRADE, E. H. A. Essential oils from Annonaceae species from Brazil: A systematic review of their phytochemistry, and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**. Basel, v. 22, n. 22, p. 1–23, 2021.

CASTALDO, L.; NARVÁEZ, A.; IZZO, L.; GRAZIANI, G.; RITIENI, A. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of coffee silverskin polyphenolic extract and characterization of bioactive compounds using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. **Molecules**. Basel, v. 25, n. 9, p. 1–14, 2020.

CHEM WAHT. Tiramina CAS #: 51-67-2. Disponível em: <https://www.chemwhat.pt/tiramina-cas-51-67-2/>. Acesso em: 12 set. 2022.

CHEN, J. J.; WILKINSON, J. R. The monoamine oxidase type B inhibitor rasagiline in the treatment of Parkinson Disease: Is tyramine a challenge? **Journal of Clinical Pharmacology**. Stamford, v. 52, p. 620–628, 2012.

CHMIELEWSKI, P. The dynamic nature of ageing: novel findings, therapeutic avenues and medical interventions. **Anthropological Review**. London, v. 83, p. 75–92 2020.

COLCHERO, F.; JONES, O. R.; CONDE, D. A.; HODGSON, D.; ZAJITSCHKEK, F.; *et al.* The diversity of population responses to environmental change. **Ecology Letters**. Oxford, v. 22, p. 342–353, 2019.

COMINETTI, C.; ROGERO, M. M.; HORST, M. A. **Genômica nutricional: Dos fundamentos à nutrição molecular**. 1. ed. Manole, Barueri: 2016.

COZZOLINO, S. M. F., & COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença**. Barueri: Manole, 2013.

DALA-PAULA, B. M.; TAVANO, O. L.; GLORIA, M. B. A. *In vitro* bioaccessibility of bioactive amines from *Annona crassiflora* pulp. In: 13^o SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4., 2019, Campinas. **Anais [...]**. Galoá, 2019.

DALA-PAULA, B. M.; DEUS, V. L.; TAVANO, O. L.; GLORIA, M. B. A. *In vitro* bioaccessibility of amino acids and bioactive amines in 70% cocoa dark chocolate. **Food Chemistry**. Barking, v. 343, n. 128397, p. 1–58, 2021a.

DALA-PAULA, B. M.; STARLING, M. F.; GLORIA, M. B. A. Vegetables consumed in Brazilian cuisine as sources of bioactive amines. **Food Bioscience**. Quebec, v. 40, n. 100856, p. 1–8, 2021b.

DELGADO, A. M.; ISSAOUI, M.; CHAMMEM, N. Analysis of Main and Healthy Phenolic Compounds. **Journal of AOAC International**. Arlington, v. 102, n. 5, p. 1356–1364, 2019.

DEL RIO, B.; REDRUELLO, B.; LINARES, D. M.; LADERO, V.; RUAS-MADIEDO, L.; FERNANDEZ, M.; MARTIN, M. C.; ALVAREZ, M. A. The biogenic amines putrescine and cadaverine show *in vitro* cytotoxicity at concentrations that can be found in foods. **Scientific Reports**. London, v. 9, n. 120, p. 1–7, 2019.

DIAS, A. C. G. **Representações sobre a velhice: o ser velho e o estar na terceira idade. Velhice, que idade é esta?** Porto Alegre: Síntese Ltda, 1998.

DIAS, F. G. B.; FERREIRA, M. J. G.; SILVA, L. M. R.; MENEZES, R. C. S.; FIGUEIREDO, E. A. T. Bioaccessibility of the bioactive compounds and antimicrobial activity of aqueous extracts of *Physalis angulata* L. **Revista Ciência Agronômica**. Ceará, v. 51, n. 3, e20196619, 2020.

DHALARIA, R.; VERMA, R.; KUMAR, D.; PURI, S.; TAPWAL, A.; KUMAR, V.; NEPOVIMOVA, E.; KUČA, K. Bioactive compounds of edible fruits with their anti-aging properties: A comprehensive review to prolong human life. **Antioxidants**. Basel, v. 9, n. 11, p. 1–38, 2020.

DÖNERTAŞ, H. M.; FUENTEALBA, M.; PARTRIDGE, L.; THORNTON, J. M. Identifying potential ageing-modulating drugs *in silico*. **Trends Endocrinology Metabolism**. New York, v. 30, n. 2, p. 118–131, 2019.

DUARTE, E. L.; CARLOS, L. A.; RODRIGUES, C. G.; ANDRADE, R. M.; OLIVEIRA, K. G. Influência da liofilização sobre os carotenoides de frutos do Cerrado e comportamento higróscopico dos pós-lioofilizados. **Biológicas & Saúde**. Campos dos Goytacazes, v. 7, n. 23, p. 22–33, 2017.

DUTRA, R. L.T.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**. Essex, v. 100, p. 650–657, 2017.

EFSA (European Food Safety Authority). Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Scientific Opinion on risk-based control of biogenic amine formation in fermented foods. **EFSA Journal**. Parma, v. 9, n.10, p. 1–93, 2011.

EISENBERG, T.; ABDELLATIF, M.; SCHROEDER, S.; PRIMESSNIG, U.; STEKOVIC, S.; *et al.* Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine. **Nature Medicine**. New York, v. 22, n.12, p. 1428–1438, 2016.

EKMEKCIOGLU, C. Nutrition and longevity - From mechanisms to uncertainties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Cleveland, v. 60, n.v18, p. 3063–3082, 2019.

EL HUSSEINY, I. M.; EL KHOLY, S.; MOHAMED, A. Z.; MESHRIF, W. S.; ELBRENSE, H. Alterations in biogenic amines levels associated with age-related muscular tissue impairment in *Drosophila melanogaster*. **Saudi Journal of Biological Sciences**. Riad, v. 29, n. 5, p. 3739–3748, 2022.

ENGUERRAN, M.; CHEVÉ, D.; MONTEPARE, J. M. Demographic aging and biopower. **Journal of aging studies**. New York, v. 51, p.100820-100820, 2019.

FARIAS, D. P.; ARAÚJO, F. F.; NERI-NUMA, I. A.; DIAS-ALDIBERT, F. L.; DELAFIORI, J.; CATHARINO, R. R.; PASTORE, G. M. Effect of *in vitro* digestion on the bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds in fractions of *Eugenia pyriformis* fruit. **Food Research International**. Essex, v. 150, n. 110767, p. 1–7, 2021.

FERNANDES, A. **Revolução demográfica, saúde e doença**. In A.M. Fonseca (Coord), **Envelhecimento, saúde e doença. Novos desafios para a prestação de cuidados a idosos**. Lisboa: Coisas de Ler: 2014. 13–18 p.

FERNANDES, G. W.; PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SCARIOT, A.; AGUIAR, L. M. S.; FERREIRA, G.; MACHADO, R.; FERREIRA, M. E.; DINIZ, S.; PINHEIRO, R.; COSTA, J. A. S.; DIRZO, R.; MUNIZ, F. **Cerrado em busca de soluções sustentáveis**. Rio de Janeiro: Vertentes Produções Artísticas, 2018, 212 p.

FERNÁNDEZ-REINA, A.; URDIALES, J. L.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F. What we know and what we need to know about aromatic and cationic biogenic amines in the gastrointestinal tract. **Foods**. Basel, v. 7, n.9, p. 1–33, 2018.

FERREIRA, P., RODRIGUES, R., NOGUEIRA, D. **Avaliação multidimensional em idosos**. Coimbra: Mar da Palavra, 2006.

FILFAN, M.; OLARU, A.; UDRISTOIU, I.; MARGARITESCU, C.; PETCU, E.; HERMANN, D. M.; POPA-WAGNER, A. Long-term treatment with spermidine

increases health span of middle-aged Sprague-Dawley male rats. **Geroscience**, Berlin, v. 42, n. 3, p. 937–949, 2020.

GIL-IZQUIERDO, A., ZAFRILLA, P., TOMÁS-BARBERÁN, F. A. An *in vitro* method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. **European Food Research & Technology**. Berlin, v. 214, p. 155–159, 2002.

GIROTO, J. M.; MASSON, M. L.; HARACEMIV, S. M. C. Biogenic amines in sausages and other foods. **Brazilian Journal Food Technology**. Campinas, v. 13, n.1, p. 1–10, 2010.

GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines. In H. Hui; L.L. Nollet. **Handbook of Food Science, Technology and Engineering**. Ed. Marcel Dekker, v. 4, p. 1–38, 2005.

GÓMEZ-GALLEGO, C.; RECIO, I.; GÓMEZ-GÓMEZ, V.; BERNAL, M. J. ROS, G.; PERIAGO, M. J. Effect of processing on polyamine content and bioactive peptides released after *in vitro* gastrointestinal digestion of infant formulas. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 99, n. 2, p. 924–932, 2016.

GRANATO, D; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos**: Uma abordagem teórico-prática. São Paulo: Elsevier, 2016.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

HANDA, A. K.; TAHIRA, F.; MATTOO, A. K. Polyamines: bio-molecules with diverse functions in plant and human health and disease. *Frontiers in Chemistry*. Lausanne, v. 6, p.6–10, 2018.

HAO, L.Y.; ARMANIOS, M.; STRONG, M. A.; KARIM, B. Short telomeres, even in the presence of telomerase, limit tissue renewal capacity. **Cell**. Cambridge, v. 123, n. 6, p. 1121–1131, 2005.

HARTLEY A. V.; MARTIN, M.; LU, T. Aging: cancer-an unlikely couple. **Aging**. Washington, v. 9, n. 9, p. 1949–1950, 2017.

HESTERBERG, R. S.; CLEVELAND, J. L.; EPLING-BURNETTE, P. K. Role of polyamines in immune cell functions. **Medical Sciences**. Kaunas, v. 6, n.1, p. 1–19, 2018.

HIRANO, R.; SHIRASAWA, H.; KURIHARA, S. Health-Promoting Effects of Dietary Polyamines. **Medical Sciences**. Kaunas, v. 9, p. 1–8, 2021.

HUANG, C.Y.; FANG, Y. J.; ABULIMITI, A.; YANG, X.; LI, L.; LIU, K. Y.; FENG, X. L.; CHEN, Y. M.; ZHANG, C. X. Dietary Polyamines Intake and Risk of Colorectal Cancer: A Case-Control Study. **Nutrients**. Basel, v.12, n.11, p. 1–15, 2020.

IGLESIAS-CARRES, L.; MAS-CAPDEVILA, A.; BRAVO, F. I.; ARAGONÈS, G.; AROLA-ARNAL, A.; MUGUERZA, B. A comparative study on the bioavailability of phenolic compounds from organic and nonorganic red grapes. **Food Chemistry**. Barking, v. 299, n. 1–9, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed., 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1018 p.

JIANG, D.; JIANG, Y.; LONG, S.; CHEN, Z.; LI, Y.; MO, G.; BAI, L.; HAO, X.; YAN, Y.; LI, L.; HAN, C.; HU, S.; ZHAO, H.; KANG, B. Spermidine at supraphysiological doses induces oxidative stress and granulosa cell apoptosis in mouse ovaries. **Theriogenology**. Stoneham, v. 168, p. 25–32, 2021.

KALAC, P.; KRAUSOVÁ, P. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. **Food Chemistry**. Barking, v. 90, n. 1, p. 219–230, 2014.

MALWADE, S.; HSIEH, C. H.; ISLAM, M. M.; ATIQUE, S.; KHALFAN, A. M.; LI, Y. C. J.; SHABBIR, S. A. I. The usefulness and actual use of wearable devices among the elderly population. **Science Direct**. Amsterdam, v.153, p.137–159, 2018.

KOEHNLEIN, E. A.; KOEHNLEIN, E. M.; CORRÊA, R. C. G.; NISHIDA, V. S.; CORREA, V. G.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Analysis of a whole diet in terms of phenolic content and antioxidant capacity: effects of a simulated gastrointestinal digestion. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. Basingstoke, v. 67, n. 6, p. 614–623, 2016.

KROLL, J.; RAWEL, H. M.; ROHN, S. Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds. **Food Science and Technology**. London, v. 9, p. 205–218, 2003.

KUMAR, N.; YIN, C. The anti-inflammatory peptide Ac-SDKP: Synthesis, role in ACE inhibition, and its therapeutic potential in hypertension and cardiovascular diseases. **Pharmacological Research**. London, v. 134, p. 268–279, 2018.

LAHIRI, V.; HAWKINS, W. D.; KLIONSKY, D. J. Watch what you (self-) eat: autophagic mechanisms that modulate metabolism. **Cell Metabolism**. Cambridge, v. 29, n. 4, p. 803–826, 2019.

LAMBRECHT, H. S. Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. **Fruit Processing**. Berlin, v. 2, p. 9–13, 1995.

LI, J.; BEUERMAN, R.; VERMA, C. S. Mechanism of polyamine induced colistin resistance through electrostatic networks on bacterial outer membranes. **BBA – Biomembranes**. New York, v. 1862, n. 183297, p. 1–8, 2020.

LI, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; WANG, Y.; FANG, J.; YUE, H.; MA, S.; GUAN, F. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. **Biogerontology**. Dordrecht, v. 22, n. 2, p. 165–187, 2021.

LIU, Y.; WENG, W.; GAO, R.; LIU, Y. New Insights for Cellular and Molecular Mechanisms of Aging and Aging-Related Diseases: Herbal Medicine as Potential Therapeutic Approach. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. Warsaw, v. 2019, p. 1–26, 2019.

LINGUA, M. S.; THEUMER, M. G.; KRZYNSKI, P.; WUNDERLIN, D. A.; BARONI, M.V. Bioaccessibility of polyphenols and antioxidant properties of the white grape by

simulated digestion and Caco-2 cell assays: Comparative study with its winemaking product. **Food Research International**. Essex, v. 122, p. 496–505, 2019.

LÓPEZ-OTÍN, C.; BLASCO, M. A.; PARTRIDGE, L.; SERRANO, M.; KROEMER, G. The Hallmarks of aging. **Cell**. Cambridge, v. 153, n. 6, p. 1194–1217, 2013.

LUCAS-GONZÁLEZ, R.; VIUDA-MARTOS, M.; ÁLVAREZ, J. A. P.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Changes in bioaccessibility, polyphenol profile and antioxidant potential of flours obtained from persimmon fruit (*Diospyros kaki*) co-products during *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**. Barking, v. 256, p. 252–258, 2018a.

LUCAS-GONZALEZ, R.; VIUDA-MARTOS, M.; ÁLVAREZ, J. A. P.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. *In vitro* digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. **Food Research International**. Essex, v.107, p. 423–436, 2018b.

MAAS, P. J. M.; KAMER, H. M.; JUNIKKA, L.; MELLO-SILVA, R.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. **Rodriguésia**. Rio de Janeiro, v. 52, n. 80, p. 65–98, 2001.

MADEO, F.; EISENBERG, T.; PIETROCOLA, F.; KROEMER, G. Spermidine in health and disease. **Science**. Washington, v. 359, ean2788, 2018.

McNAMARA, K. M.; GOBER, A. P.; WILSON, K. T. The role of polyamines in gastric câncer. **Oncogene**. California, v. 40, n. 26, p. 4399–4412, 2021.

MARGRAF, T.; SANTOS, E. N. T.; DE ANDRADE, E. F.; VAN RUTH, S. M.; GRANATO, D. Effects of geographical origin, variety and farming system on the chemical markers and *in vitro* antioxidant capacity of Brazilian purple grape juices. **Food Research International**. Essex, v. 82, p. 145–155, 2016.

MELINI, V.; MELINI, F.; LUZIATELLI, F.; RUZZI, M. Functional Ingredients from Agri-Food Waste: Effect of Inclusion Thereof on Phenolic Compound Content and Bioaccessibility in Bakery Products. **Antioxidants**. Basel, v. 9, n. 12, p. 1–29, 2020.

MELZER, D.; PILLING, L. C.; FERRUCCI, L. The genetics of human ageing. **Nature Reviews Genetics**. London, v. 21, n. 12, p. 88–101, 2020.

MENNAH-GOVELA; Y. A.; KEPPLER, S.; JANUZZI-GUERREIRO, F.; FOLLADOR-LEMO, C.; VILPONT, K.; BORNHORST, G. M. Acid and moisture uptake into red beets during *in vitro* gastric digestion as influenced by gastric pH. **Food Biophysics**. New York, v. 15, p. 261–272, 2020.

MELO, J. T.; AGOSTINI-COSTA, T. S. **Espécies alimentícias nativas da região Centro-Oeste: *Annona crassiflora* (araticum)**. In: VIEIRA, R. P. *et al.* (Ed.). *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial Plantas para o Futuro - Região Centro-Oeste*. Brasília: Biblioteca do Ministério do Meio Ambiente, 2016. 160p.

MENNAH-GOVELA, Y. A.; BORNHORST, G. M. Breakdown mechanism of whey protein gels during dynamic *in vitro* gastric digestion. **Food & Function**. Cambridge, v. 12, p. 2112–2125, 2021.

MESSERLI, F. H.; BANGALORE, S.; BAVISHI, C.; RIMOLDI, S. F. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: To Use or Not to Use? **Journal of the American College of Cardiology**. New York, v. 71, n. 13, p. 1474–1482, 2018.

METUR, S. P.; KLIONSKY, D. J. The curious case of polyamines: spermidine drives reversal of B cell senescence. **Autophagy**. Georgetown, v. 16, n. 3, p. 389–390, 2020.

MICHEL, J. P.; SADANA, R. Healthy Aging Concepts and Measures. **Jamda**. Hagerstown, v. 18, n. 6, p. 460–464, 2017.

MINEKUS, M. *et al.* A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & function**. Cambridge, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MINOIS, N. Molecular Basis of the ‘Anti-Aging’ Effect of Spermidine and Other Natural Polyamines - A Mini-Review. **Gerontology**. Dordrecht, v. 60, p. 319–326, 2014.

MORAIS, E.C.; PATIAS, S.G.O.; FERREIRA, N.S.S.; PICANÇO, N.F.M.; RODRIGUES, E.C.; NASCIMENTO, E.; FARIA, R.A.P.G. Compostos bioativos e características físico-químicas de polpa de araticum *in natura* e pasteurizada. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 20, e2016142, 2017.

MORI, M.A. Aging: a New Perspective on an Old Issue. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 2, p. 1–14, 2020.

MUNIZ, H. J. T. **Frutas do mato. Um guia para identificação, cultivo e usos**. Fascículo 1. 33 espécies de anonáceas brasileiras. 1 ed. Projeto colecionando frutas, 2018.

MUÑOZ-ESPARZA, N. C.; LATORRE-MORATALLA, M. L.; VECIANA-NOGUÉS, M. T.; VIDAL-CAROU, M. C. Polyamines in Food. **Frontiers in Nutrition**. Lausanne, v. 6, p. 1–11, 2019.

MULI, S.; MEISINGER, C.; HEIER, M.; THORAND, B.; PETTERS, A.; AMANN, A. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in older people: results from the population-based KORA-age 1 study. **BMC Public Health**. London, v. 20, n. 1049, p. 1–10, 2020.

NAKAMURA, A.; OOGA, T.; MATSUMOTO, M. Intestinal luminal putrescine is produced by collective biosynthetic pathways of the commensal microbiome. **Gut Microbes**. London, v. 10, n. 2, p. 159–171, 2019.

NAKANISHI, S.; CLEVELAND, J. L. Polyamine Homeostasis in Development and Disease. **Medical Sciences**. Kaunas, v. 9, n. 2, p. 1–17, 2021.

NASCIMENTO, A. L. A. A. *et al.* Chemical characterization and antioxidant potential of native fruits of the Cerrado of northern Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 23, e2019296, 2020.

NERI, A. L. **Palavras-chave em Gerontologia**. 2. ed. Campinas: Alínea, 2005.

OGRODNIK, M. Cellular aging beyond cellular senescence: Markers of senescence prior to cell cycle arrest *in vitro* and *in vivo*. **Aging Cell**. Oxford, v. 20, e13338, 2021.

OLSZOWY, M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? **Plant Physiology and Biochemistry**. Versailles, v. 144, p. 135–143, 2019.

ONU - Organização das Nações Unidas. **Assembléia Mundial sobre envelhecimento: resolução 39/125**. Viena: 1982.

PAVAN, V.; SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G. M. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). **Food science and technology**. London, v. 59, n. 2, p.1247–1251, 2014.

PEGG, A. E. Functions of Polyamines in Mammals. **Journal of Biological Chemistry**. Baltimore ,v. 291, n. 29, p. 14904–14912, 2016.

PIMENTA, A. C.; SILVA, P. S. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Caracterização de plantas e de frutos de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart.) nativos no Cerrado Mato-grossense. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 36, n. 4, p. 892–899, 2014.

PINACHO, R.; CAVERO, R. Y.; ASTIASARÁN, I., ANSORENA, D., CALVO, M. I. Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and influence of *in vitro* digestion on their antioxidant capacity. **Journal of Functional Foods**. Cambridge , v. 19, p. 49–62, 2015.

PRADO, L. G.; ARRUDA, H. S.; ARAÚJO, N.M. P.; BRAGA, L. E. O.; BANZATO, T. P. *et al.*, Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (*Annona crassiflora* Mart.) peel and seed. **Food Research International**. Essex, v. 133, p. 1–8, 2020.

PUCIARELLI, S.; MORESCHINI, B.; MICOZZI, D.; de FRONZO, G. S.; CARPI, F. M.; POLZONETTI, V.; VINCENZETTI, S.; MIGNINI, F.; NAPOLIONI, V. Spermidine and spermine are enriched in whole blood of nona-centernarians. **Rejuvenation Research**. New York, v. 15, n. 6, p. 590–595, 2012.

PULESTON, D. J. ZHANG, H.; POWELL, T. J.; LIPINA, E.; SIMS, S. *et al.* Autophagy is a critical regulator of memory CD8(+) T cell formation. **Elife**, v.3, e03706, 2014.

PULESTON. D. J.; BUCK, M. D.; GELTINK, R. I. K.; KYLE, R. L.; CAPUTA, G.; *et al.* Polyamines and eIF5A Hypusination Modulate Mitochondrial Respiration and Macrophage Activation. **Cell Metabolism**. Cambridge, v. 30, n. 2, p. 352–363, 2019.

RAHMAN, M.; RAHMAN, S.; ISLAM, R.; RAHMAN, F.; MITHI, F. M.; *et al.* Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. **Molecules**. Basel, v. 27, n. 1, p. 1–36, 2022.

REIS, G. C. L.; DALA-PAULA, B. M.; TAVANO, O. L.; GUIDI, L. R.; GODY, H. T.; GLORIA, M. B. A. *In vitro* digestion of spermidine and amino acids in fresh and

processed *Agaricus bisporus* mushroom. **Food Research International**. Essex, v. 137, p. 1–8, 2020a.

REIS, G. C. L.; CUSTODIO, F. B.; BOTELHO, B. B. G.; GUIDI, LETÍCIA, R.; *et al.* Investigation of biologically active amines in some selected edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**. San Diego, v. 86, n. 3, p. 1–28, 2020b.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L.C.; PASTORE, G. Evaluation of the Antioxidant Properties of the Brazilian Cerrado Fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of food science**. Chicago, v. 71, n. 2, p. 102–107, 2006.

ROESLER, R.; CATHARINO, R.R.; MALTA, L.G.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**. Barking, v. 104, p. 1048–1054, 2007.

RUBINSZTEIN, D. C.; MARINO, G.; KROEMER, G. Autophagy and aging. **Cell**. Cambridge, v. 146, n. 5, p. 682–695, 2011.

RUIZ-CHICA, A. J.; MEDINA, M. A.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F.; RAMÍREZ, F. J. Study by electronic circular dichroism spectroscopy of the interaction between aminoxy analogues of biogenic polyamines and selected oligonucleotides. **Journal of Molecular Structure**. Amsterdam, v.744-747, p. 691–698, 2005.

SAGAR, N.; TARAFDAR, S.; AGARWAL, S.; TARAFDAR, A.; SHARMA, S.; MURAI, N. Polyamines: Functions, Metabolism, and Role in Human Disease Management. **Medical Sciences**. Kaunas, v. 9, n. 2, p. 1–21, 2021.

SANTIAGO-SILVA, P.; LABANCA, R. A.; GLORIA, M. B. A. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. **Food Research International**. Essex, v. 44, p.1264–1268, 2011.

SCHIASSI, M. C. E. V.; SOUZA, V. R.; LAGO, A.M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**. Barking, v. 245, p. 305–311, 2018.

SEBASTIANI, P.; GURINOVICH, A.; BAE, H.; ANDERSEN, S.; MALOVINI, A.; ATZMON, G.; *et al.* Four genome-wide association studies identify new extreme longevity variants. **The Journals of Gerontology**. Dordrecht, v. 72, n. 11, p. 1453–1464, 2017.

SEIXAS, F. R. F.; BASSOLI, B. K.; VIRGOLIN, L. B.; GARCIA, L. C.; JANZANTTI, N. S. Physicochemical Properties and Effects of Fruit Pulps from the Amazon Biome on Physiological Parameters in Rats. **Nutrients**. Basel, v. 13, n. 5, p. 1–11, 2021.

SILVA, E. P. ABREU, W.C.; GONÇALVES, O. A.; DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. B. Characterization of chemical and mineral composition of marolo (*Annona crassiflora* Mart) during physiological development. **Food Science and Technology**. London, v. 37, n.1, p.13–18, 2017.

SILVA, E.P.; DIAS, L. G.; MAROT, P. P.; GOULART, G. A. S.; FREITAS, F. A.; DAMIANI, C. Fatty acid and chemical composition of the seed and the oil obtained from marolo fruit (*Annona crassiflora* Mart.). **Research, Society and Development**. Itajubá, v. 9, n. 9, e389996670, 2020a.

SILVA, J. S.; ORTIZ, D. W.; GARCIA, L. G. C.; ASQUIERI, E. R.; BECKER, F. S.; DAMIANI, C. Effect of drying on nutritional composition, antioxidant capacity and bioactive compounds of fruits co-products. **Food Science and Technology**. London, v. 40, p. 810–816, 2020b.

SIMON-SARKADI, L. HOLZAPFEL, W. H.; HALASZ, A. Biogenic amine content and microbial contamination of leafy vegetables during storage at 5°C. **Journal of Food Biochemistry**. California, v.17, p. 407–418, 1994.

SIQUEIRA, E. M. A.; ROSA, F. R.; FUSTINONI, A. M.; SANT´ANA, L. P.; ARRUDA, S. F. Brazilian Savanna Fruits Contain Higher Bioactive Compounds Content and Higher Antioxidant Activity Relative to the Conventional Red Delicious Apple. **Plos One**. San Francisco, v. 88, e72826, 2013.

SODA, K. Overview of Polyamines as Nutrients for Human Healthy Long Life and Effect of Increased Polyamine Intake on DNA Methylation. **Cells**. Basel, v. 11, n.1, p. 1–29, 2022.

SOLLANO-MENDIETA, X. C. MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; OSORIO-REVILLA, G.; TÉLLEZ-MEDINA, D. I. Effect of *in vitro* digestion on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of 12 plum (*Spondias purpúrea* L.) Ecotypes. **Foods**. Basel, v. 10, n. 9, p. 1–15, 2021.

SOLIS, M. Y. **Nutrição e exercício no envelhecimento e nas doenças crônicas**. São Paulo: Senac, 2021.

SOUZA, V. R. S.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**. Barking, v. 134, n.1, p. 381–386, 2012.

STAFUSSA. A. P.; MACIEL, G. M.; RIBEIRO, V. R.; BONA, E.; MAKARA, C. N.; DEMCZUK JUNIOR, B.;HAMINIUK, C. W. I. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity. **International Journal of Food Properties**. London, v.21, p. 106–118, 2018.

STAFUSSA. A. P.; MACIEL, G. M.; BORTOLINI, D. G.; MAROLDI, W. V.; RIBEIRO, V. R.; FACHI, M. M.; *et al.* Bioactivity and bioaccessibility of phenolic compounds from Brazilian fruit purees. **Future Foods**. Queensland, v. 4, p. 1–37, 2021.

VAN BREDA, S. G.J; KOK, T. M. C. Smart Combinations of Bioactive Compounds in Fruits and Vegetables May Guide New Strategies for Personalized Prevention of Chronic Diseases. **Molecular Nutrition & Food Research**. Weinheim, v. 62, n. 1, p. 1–12, 2018.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**. Barking, v. 111, n. 4, p. 816–823, 2008.

VO, G. T.; LIU, Z.; CHOU, O.; ZHONG, B.; BARROW, C. J.; DUNSHEA, F. R.; SULERIA, H. A. R. Screening of phenolic compounds in australian grown grapes and their potential antioxidant activities. **Food Bioscience**. Quebec, v. 47, p. 1–13, 2022.

WANG, J.; LI, S.; WANG, J.; WU, F.; CHEN, Y.; ZHANG, H.; GUO, Y.; *et al.* Spermidine alleviates cardiac aging by improving mitochondrial biogenesis and function. **Aging**. Washington, v. 12, n. 1, p. 650–671, 2019.

WANG, Z.-X.; LIN, Q.-Q.; TU, Z.-C.; ZHANG, L. The influence of *in vitro* gastrointestinal digestion on the *Perilla frutescens* leaf extract: Changes in the active compounds and bioactivities. **Journal of Food Biochemistry**. California, v. 44, e13530, 2020.

WIRTH, M.; SCHWARZ, C.; BENSON, G.; HORN, N.; BUCHERT, R.; LANGE, C.; *et al.* Effects of spermidine supplementation on cognition and biomarkers in older adults with subjective cognitive decline (SmartAge)-study protocol for a randomized controlled trial. **Alzheimers Research & Therapy**. London, v. 11, n. 1, p. 1–17, 2019.

WHO. **World report on ageing and health**. World Health Organization, 2015.

WHO. **Assessing national capacity for the prevention and control of noncommunicable diseases: report of the 2019 global survey**. Geneva: World Health Organization, 2020.

WHO. **Ageing and health**. World Health Organization, 2021.

ZHANG, H.; WANG, J.; LI, L.; CHAI, N.; CHEN, Y.; *et al.* Spermine and spermidine reversed age-related cardiac deterioration in rats. **Oncotarget**. New York, v. 8, p. 64793–64808, 2017.

ZHANG, H.; ALSALEH, G.; FELTHAM, J.; NAPOLITANO, G.; RIFFELMACHER, T.; CHARLES, F.; *et al.* Polyamines control eIF5A hypusination, TFEB translation, and autophagy to reverse B cell senescence. **Molecular Cell**. Cambridge, v. 76, n. 1, p. 110–125, 2019.

ZHAO, C.; WONG, L.; ZHU, Q.; YANG, H. Prevalence and correlates of chronic diseases in an elderly population: A community-based survey in Haikou. **PLoS One**. San Francisco, v. 13, n. 6, e0199006, 2018.