

OS BENEFÍCIOS DA SUBSTITUIÇÃO DO THEOBROMA CACAU PELO CERATONIA SILIQUA USANDO COMO MODELO CAENORHABDITIS ELEGANS

Khayan Pimentel Capistrano ¹

Felix Roman Munieweg ²

Andréia Limana Tambara ³

Jean Ramos Bolodori ⁴

Cristiane de Freitas Rodrigues ⁵

Cristiane Casagrande Denardin ⁶

Resumo:

Atualmente, existe no mercado um novo alimento a fim de substituir o uso de cacau (*Theobroma cacao*), considerado isento de lactose livre e cafeína, o alfarroba (*Ceratonia siliqua*). Desta forma, por muitos anos o cacau, tornou-se um forte aliado na redução de problemas no sistema cardiovascular devido ao depósito de gordura, o qual cada vez mais pessoas que sofrem de problemas relacionados à acumulação de lipídios. Com isso, o presente estudo tem como objetivo averiguar os efeitos da substituição do cacau pelo alfarroba nos níveis de triglicerídios utilizando como modelo *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*). Foram feitos extratos aquosos tanto de alfarroba quanto de cacau para as análises bromatológicas e a quantificação de compostos fenólicos, os quais estes foram retiradas as devidas concentrações de 3,1 µg/mL; 31 µg/mL; 62µg/mL para os ensaios in vivo. Foram utilizando a cepa N2, tipo selvagem para os ensaios da gotícula de lipídios, triglicerídeos e bombeamento faríngeo. Logo, os ensaios bromatológico demonstraram que o extrato aquoso do cacau apresenta um percentual de proteína bruta e de lipídios maiores ao do extrato aquoso da alfarroba. Logo, nos vermes esses resultados de baixos níveis de lipídios do extrato aquosos da alfarroba auxiliassem na redução parcial do metabolismo lipídicos sem alterar a ingesta alimentar do nematoide. Por isso, aconselhamos que o extrato aquoso de alfarroba faz uma excelente redução triglicérides devido à sua maior quantidade de fibras. Mas para tal declaração vai precisar de mais testes, a fim de consolidar esse resultado.

Palavras-chave: C.Elegans; Cacau; Alfarroba; Nutracêutico

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

OS BENEFÍCIOS DA SUBSTITUIÇÃO DO THEOBROMA CACAU PELO CERATONIA SILIQUA USANDO COMO MODELO CAENORHABDITIS ELEGANS

¹ Aluno de graduação. khayalpimentel@gmail.com. Autor principal

² Pós-Graduando. felixmunieweg@gmail.com. Co-autor

³ Pós-graduanda. andreialtambara@gmail.com. Co-autor

⁴ Graduando. jrboldori@gmail.com. Co-autor

⁵ pós-graduando. cristianedfr@gmail.com. Co-orientador

⁶ Docente. crisdenardin@gmail.com. Orientador

OS BENEFÍCIOS DA SUBSTITUIÇÃO DO *THEOBROMA CACAU* PELO *CERATONIA SILIQUA* USANDO COMO MODELO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que forneça benefícios a saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças. Estes produtos podem variar de nutrientes isolados, produtos biotecnológicos, suplementos dietéticos, alimentos geneticamente modificados para alimentos processados e derivados de plantas. Alguns estudos sugerem que podem exercer um efeito metabólico ou fisiológico que contribua para reduzir o risco de doenças crônicas (GERMAN & DILLARD, 2000).

Desta forma, entre diversos alimentos, um vem se destacando, a alfarroba, a qual é considerada um alimento funcional. Por este motivo, o extrato de alfarroba foi estudado por seus efeitos benéficos sobre a hipercolesterolemia, além de suas propriedades fitoquímicas e suas fontes de antioxidantes (ZUNFT *et al.*, 2001; HABER, 2002; KUMAZAWA, *et al.*, 2002). Logo, por apresentar características físicas semelhantes ao cacau, o alfarroba veio a substituir o cacau, principalmente por ser um ingrediente livre de cafeína e teobromina (AYAZ *et al.*, 2007).

Já o *Theobroma cacao*, cacau é um dos alimentos mais populares e faz parte da ingestão diária de inúmeras pessoas, e muitas desta também o utilizam pelo seu caráter funcional (DILLINGER, *et al.*, 2000). Estudos observacionais e epidemiológicos apontaram para os efeitos benéficos no sistema cardiovascular promovido chocolate amargo, rico em flavonoides. Além de contribuir favoravelmente, na alteração do perfil lipídico, na resistência à insulina e no combate ao estresse oxidativo (CORTI, *et al.*, 2009; BUITRAGO-LOPEZ, *et al.*, 2011).

O *C.elegans* é um nematóide de vida livre na matéria orgânica e no solo, de fácil manipulação e cultivo de baixo custo. Nas últimas décadas, o *C. elegans* tem sido utilizado como organismo modelo para estudos de biologia do desenvolvimento, genética, envelhecimento, de ecotoxicologia e para screening de novos fármacos. Com tal característica, há muitos estudos sobre alguns alimentos funcionais e seus efeitos em *C.elegans* (PUN *et al.*, 2010).

Com isso, o presente estudo tem como objetivo averiguar os efeitos da substituição do cacau pelo alfarroba nos níveis de triglicerídios utilizando como modelo *Caenorhabditis elegans*.

2 METODOLOGIA

1. Preparação de alfarroba e extratos de cacau

A alfarroba e o cacau em pó foram adquiridos a partir de um fornecedor local, tal como obtido pela população. Foram pesados 1g de produto em pó e adicionado a 10ml de

água destilada, homogeneizado por 10 minutos, centrifugada por 2 minutos a 1000 rpm, e o sobrenadante foi removido, sendo mais 10 ml de água adicionada. O procedimento foi repetido mais uma vez, para então finalmente coletar todo o sobrenadante que foi submetido a um processo de filtragem em cadinhos de porcelana sob vácuo.

2. Análise Bromatológica

As análises de umidade das amostras foram determinadas por gravimetria, de acordo com o método AOAC (1990). As análises de nível de lipídios foram realizadas pelo método de extração Soxhlet de acordo com o método AOAC (1990). O teor total proteico foi quantificado segundo o método Kjeldahl AOAC (1990) e a determinação da cinzas foi realizada de acordo com a metodologia do Adolfo Lutz (1976).

3. Compostos fenólicos totais

O teor total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com o ensaio colorimétrico Folin-Ciocalteu, seguindo o método descrito por Swain e Hillis (1959).

4. Cepas e protocolo de exposição

Foram utilizadas neste estudo, a cepa tipo N2 (selvagem), obtidas no centro de genética *Caenorhabditis* (Minesotta, EUA) e mantidas a 20°C e semeada com *E. coli* (OP50) como fonte de alimento (BRENNER, 1974). Após a sincronização, os quais todos os vermes estariam na mesma fase larval, L1, esses vermes foram expostos as concentrações (3.1 µg/ml, 31.0 µg/ml e 62.0 µg/ml), considerando a quantidade de ácido gálico equivalente para ambos os extratos, durante 30 minutos. Em seguida, os vermes foram transferidos para placas NGM contendo alimentos (*E. coli* OP50), os quais foram incubados até que os vermes chegassem ao estágio larval L4 para as devidas análises.

5. Níveis de triglicerídeos

Os níveis de triglicerídeos foram realizados por meio do kit Labtest, com absorvância de 500nm. Além disso, as leituras foram corrigidas pela mensuração de proteínas segundo Bradford (1974).

6. Bombeamento da faringe

Foi avaliado a ingesta alimentar dos vermes, por meio da contabilização do movimento da faringe durante um intervalo de 1 minuto por verme, este ensaio foi realizado pelo menos três vezes.

7. Análise estatística

Os resultados foram representados como média $\pm$ desvio padrão foram determinados pelo menos em triplicata de duas amostras independentes. Utilizando ANOVA seguido por pos hoc Tukey usando um programa estatístico, considerados estatisticamente significativos quando o valor p foi inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os nutracêuticos incluem uma ampla gama de categorias, tais como suplementos dietéticos, alimentos funcionais e produtos à base de plantas (RADHIKA; SINGH; SIVAKUMAR, 2011). Os compostos ativos ou fitoquímicos em plantas, especialmente frutas, têm sido associados com inúmeros benefícios de saúde e são utilizados como ingredientes em muitos nutracêuticos e produtos farmacêuticos (LACHANCE; DAS, 2007).

Observamos que a alfarroba e o cacau apresentam algumas diferenças importantes na composição bromatológica (Tabela 1). Ambos apresentam quantidades semelhantes de umidade e minerais, mas a alfarroba apresenta uma quantidade significativamente maior de proteínas e menor de lipídios em comparação com o cacau. Portanto, além das vantagens de não ter cafeína na composição, a alfarroba ainda tem mais proteínas e menos lipídios, o que é uma grande vantagem frente ao cacau. Além disso, a alfarroba apresenta um maior conteúdo de compostos fenólicos totais quando comparado com o cacau, sendo considerada mais antioxidante.

Tabela 1: Análise química de extratos aquosos de alfarroba e cacau

	% de Matéria Seca	% de Cinzas	% de Proteína Bruta	% de EE	Teor de fenólico total (µg EAG * /ml extrato)
Alfarroba	81.83 ± 1.26*	4,01 ± 0,64*	12.81 ± 0.87*	± 0.75 ± 0.07*	± 516.96 ± 76.63*
Cacau	95.00 ± 0.31*	4,23 ± 0,04*	6.02 ± 0.76*	± 7.13 ± 0.21*	± 317.27 ± 97.64*

EE = extrato etéreo

* Desvio padrão médio (SD)

* EAG = equivalentes de ácido gálico

Os resultados deste estudo mostram que o extrato de alfarroba tem um alto teor de antioxidantes fenólicos, quando comparado ao extrato de cacau (Tabela 1). Portanto, afim de avaliar o efeito desses extratos no metabolismo lipídico, utilizamos o modelo do *C.Elegans*. Observamos que o extrato de alfarroba reduziu os níveis de triglicérides (Fig. 1A), já o extrato de cacau não alterou este parâmetro (Fig. 1B).

Da mesma forma, o presente estudo demonstrou que o extrato aquoso de alfarroba causou uma diminuição significativa dos níveis de triglicérides sem alterar o bombeamento da faringe (Fig. 1C e Fig. 1D), ou seja, os animais continuam ingerindo alimentos normalmente. Portanto, acredita-se que a alfarroba possa estar modulando o acúmulo de lipídios nos animais.

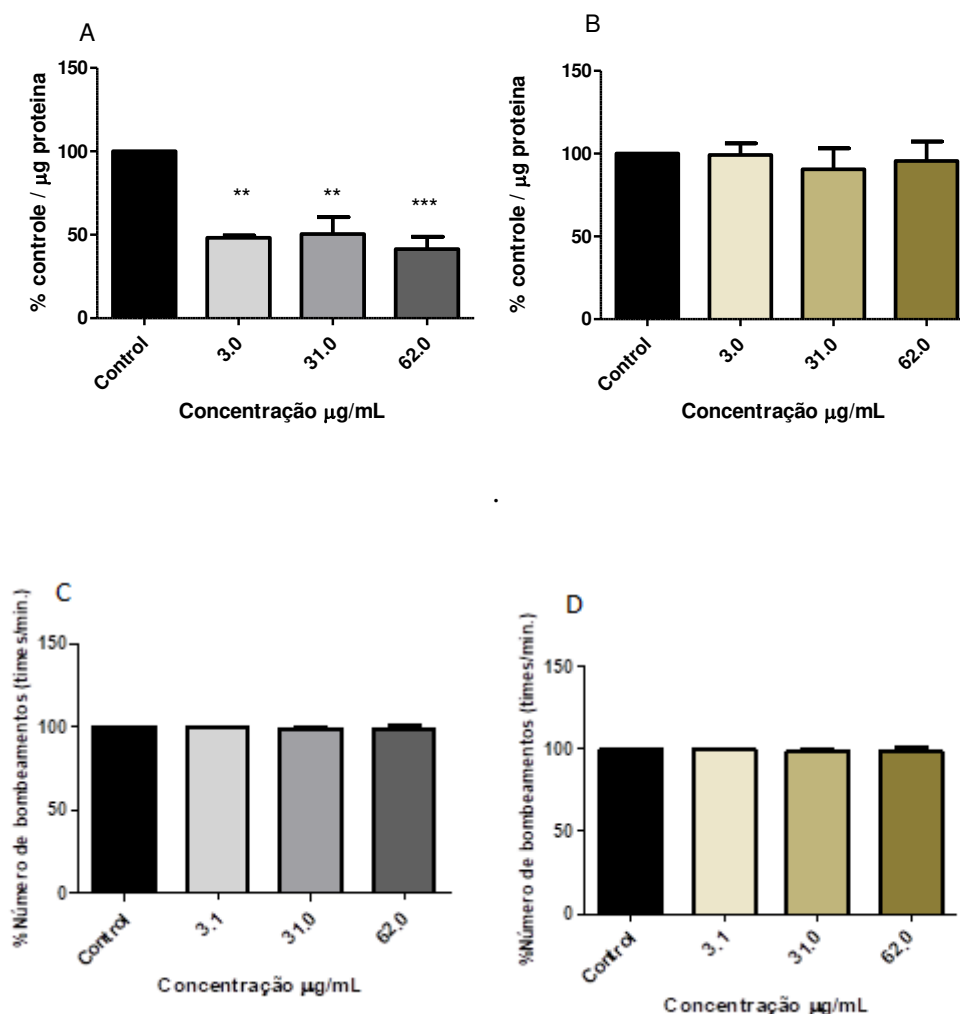


Figura 1: Efeito do cacau e alfarroba sobre os níveis de triglicerídeos (A. Alfarroba) e (B. Cacau); e batimento faríngeo (C. Alfarroba) e (D. Cacau) em *C. Elegans*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, observamos que o extrato aquoso de alfarroba representa vantagens em relação ao cacau na composição e teor de compostos bioativos, e reduziu significativamente o conteúdo de triglicerídeos em *caenorhabditis elegans*, sem alterar a ingestão de alimentos. Mais estudos devem ser realizados para entender como a alfarroba atua no metabolismo de lipídios em animais.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. Washington, 15, 763-776, 1990.

AYAZ FA, TORUN H, AYAZ S, CORREIA PJ, ALAIZ M, SANZ C, GRUZ J, STRNAD M. Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.):

sugars, amino and organic acid, minerals and phenolic compounds. J. Food. Qual., v.30, p.1040–1055, 2007.

BRADFORD, M. M. Anal. Biochem., v.72, p.248, 1976.

BRENNER, S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics, v.77, p. 71–94, 1974.

BUITRAGO-LOPEZ, A.; SANDERSON, J.; JOHNSON, L.; WARNAKULA, S.; WOOD, A.; DI ANGELANTONIO, E.; FRANCO, O.H. Chocolate consumption and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. BMJ, v.343, p.4488, 2011.

CORTI, R.; FLAMMER, A.J.; HOLLENBERG, N.K.; LUSCHER, T.F. Cocoa and cardiovascular health. Circulation, v.119, p.1433–1441, 2009.

GERMAN, B.; DILLARD, C.J. Review: Phytochemicals: nutraceutical and human health. J. Sci. Food Agric., v.80, p.1744-56, 2000.

HABER, B. Carob fibre benefits and applications. Cereal Foods World, v.47, p.365– 369, 2002.

KUMAZAWA, Shigenori; TANIGUCHI, Masa; SUZUKI, Yasuyuki; SHIMURA, Masayo; KWON, Mi-Sun; NAKAYAMA, Tsutomu. Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. J. Agric. Food Chem., v.50, p.373–377, 2002.

LACHANCE, P.A.; DAS, Y.T. Nutraceuticals. Compr. Med. Chem. II, v.1, p.449–461, 2007.

PUN, P.B.; GRUBER, J.; TANG, S.Y.; SCHAFFER, S.; ONG, R.L.; FONG, S.; NG L.F.; CHEAH, I.; HALLIWELL, B. Ageing in nematodes: do antioxidants extend lifespan in *Caenorhabditis elegans*? Biogerontology, n.1, v.11, p.17-30, feb., 2010.

RADHIKA, P.R.; SINGH, R.B.M.; SIVAKUMAR, T. Nutraceuticals: an area of tremendous scope. IJRAP, v.2, p.400–415, 2011.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The Phenolic Constituents of *Prunus domestica*. I.—The Quantitative Analysis of Phenolic Constituents. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.10, p.63-68, 1959.

ZUNFT, H.J.; LÜDER, W.; HARDE, A.; HABER, B.; GRAUBAUM, H.J.; GRUENWALD, J. Carob pulp preparation for treatment of hypercholesterolemia. Adv Ther., n.5, v.18, p.230-236, 2001.