



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**BRENDA DA SILVA BERNARDINO**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FUNCIONAL FERMENTADA COM**  
**POTENCIAL NEUROPROTETOR AVALIADO PELO MODELO ZEBRAFISH**  
**(*DANIO RERIO*)**

**FORTALEZA**

**2024**

BRENDA DA SILVA BERNARDINO

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FUNCIONAL FERMENTADA COM POTENCIAL  
NEUROPROTETOR AVALIADO PELO MODELO ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Lucicleia Barros de Vasconcelos.

Coorientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra Ana Paula Colares de Andrade

**FORTALEZA**

**2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

B444d Bernardino, Brenda da Silva.

Desenvolvimento de bebida funcional fermentada com potencial neuroprotetor avaliado pelo modelo zebrafish (*Danio rerio*) / Brenda da Silva Bernardino. – 2024.  
71 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2024.

Orientação: Profa. Dra. Lucicleia Barros de Vasconcelos.

Coorientação: Profa. Dra. Ana Paula Colares de Andrade.

1. Bebida funcional. 2. Antioxidante. 3. Bioacessibilidade. 4. Efeito Neuroprotetor. I. Título.  
CDD 664

---

BRENDA DA SILVA BERNARDINO

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FUNCIONAL FERMENTADA COM POTENCIAL  
NEUROPROTETOR AVALIADO PELO MODELO ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Área de concentração: Produtos de Origem Vegetal

Data da Aprovação: 30/04/2024

BANCA EXAMINADORA

---

Profª Drª Lucicléia Barros de Vasconcelos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profª Drª Ana Paula Colares de Andrade  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profª Drª Larissa Moraes Ribeiro da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profª Drª Maria Kueirislene Amâncio Ferreira  
Pós- doutoranda em Química Biológica  
Universidade Regional do Cariri-URCA

---

Profª Drª Nayara Macêdo Peixoto Araújo  
Universidade Federal do Pará (UFPA)

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha mais profunda gratidão à minha mãe. Seu amor incondicional, apoio constante e incentivo incansável foram a luz que guiou meu caminho ao longo de toda jornada acadêmica. Mãe, seu sacrifício e dedicação tornaram possível chegar até aqui e este trabalho é dedicado a você com todo o meu amor e gratidão.

À minha orientadora, Lucicléia Barros, expresso minha profunda admiração e gratidão. Sua orientação e incentivo foram fundamentais para a realização deste trabalho. Sua dedicação em me auxiliar a desenvolver minhas habilidades de pesquisa e a aprimorar minha compreensão do tema foram fundamentais. Além disso, sou grata pela sua paciência, apoio e orientação ao longo de todo o processo. Sua influência deixará uma marca em minha carreira acadêmica e em minha vida como um todo.

À minha coorientadora, Ana Paula Colares, expresso a minha sincera gratidão. Que me acompanhou em orientação desde a graduação e que tive o prazer de novamente de estar sendo orientada na pós-graduação. Sua expertise no campo de estudo, orientação e compromisso foram essenciais para a conclusão deste projeto. Sou grata pela sua orientação e apoio ao longo deste processo, e por contribuir de maneira significativa para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos que fiz durante o curso de mestrado, expresso minha sincera admiração. Suas conversas estimulantes e apoio mútuo tornaram esta jornada acadêmica muito mais significativa e enriquecedora. Cada um contribuiu de maneira única para minha formação como acadêmica e como pessoa, e sou imensamente grata por isso.

Por fim, gostaria de expressar minha gratidão à agência de financiamento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa, possibilitando o desenvolvimento desta pesquisa.

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar duas bebidas fermentadas de origem vegetal sobre seu potencial antioxidante, conteúdo mineral e efeito neuroprotetor. Foram elaboradas duas bebidas vegetais onde a primeira foi formulada com extrato de castanha de caju (CA) e a segunda foi adicionada uma combinação de castanha de caju e coco (CACC) que foram fermentadas com kombucha e saborizadas com maracujá (M). As bebidas foram submetidas a testes físico-químicos, minerais, bioacessibilidade e testes *in vivo* utilizando o modelo animal Zebrafish (*Danio rerio*). A atividade antioxidante foi analisada pelo método ABTS e os minerais por absorção atômica e plasma. A digestão gastrointestinal simulada (SGD) *in vitro* avaliou a bioacessibilidade. Ensaios *in vivo* com Zebrafish investigaram toxicidade, atividade locomotora e esQUIVA inibitória com os componentes das bebidas. Os resultados mostraram que ambas as bebidas apresentaram alta atividade antioxidante, com aumento significativo após a SGD. A análise da bioacessibilidade mineral revelou diferenças significativas entre as bebidas. A bebida CACC+M demonstrou maior bioacessibilidade de cálcio (61,10%), enquanto a CA+M apresentou maior bioacessibilidade de zinco (45,72%) e selênio (11,90%). Em relação a composição mineral total, a CA+M destacou-se nos teores de cálcio e magnésio (1,4515 mg e 20,3913 mg, respectivamente), enquanto a CACC+M apresentou maiores concentrações de ferro (2,179 mg) e zinco (1,904 mg). Ensaios *in vivo* com Zebrafish demonstraram segurança toxicológica e eficácia neuroprotetora para o componente CA. Observou-se que o MK-801 inibiu o efeito preventivo de CA na memória do modelo animal. O presente estudo demonstrou o potencial da incorporação destas bebidas fermentadas à base de plantas na dieta para aumentar a ingestão de minerais essenciais e antioxidantes. As avaliações toxicológicas confirmaram a segurança de ambas as formulações para consumo humano.

**Palavras-chave:** bebida funcional; antioxidante; bioacessibilidade; efeito neuroprotetor.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate two fermented beverages plant-based about their antioxidant potential, mineral content and neuroprotective effect. Two plant-based beverages were produced, the first formulated with cashew nut extract (CA) and the second with a combination of cashew nuts and coconut (CACC), which were fermented with kombucha and flavored with passion fruit (M). The beverages were submitted to physicochemical, mineral, bioaccessibility and *in vivo* tests using the Zebrafish (*Danio rerio*) animal model. Antioxidant activity was analyzed by the ABTS method and minerals by atomic absorption and plasma. *In vitro* simulated gastrointestinal digestion (SGD) evaluated bioaccessibility. *In vivo* tests with zebrafish investigated toxicity, locomotor activity and inhibitory avoidance with the components of the beverages. The results showed that both beverages had high antioxidant activity, with a significant increase after SGD. Analysis of mineral bioaccessibility revealed significant differences between the beverages. The CACC+M beverage showed the highest bioaccessibility of calcium (61.10%), while CA+M showed the highest bioaccessibility of zinc (45.72%) and selenium (11.90%). Regarding total mineral composition, CA+M stood out in calcium and magnesium content (1.4515 mg and 20.3913 mg, respectively), while CACC+M showed higher concentrations of iron (2.179 mg) and zinc (1.904 mg). *In vivo* tests with zebrafish showed toxicological safety and neuroprotective efficacy for the CA component. It was observed that MK-801 inhibited the preventive effect of CA on memory in the animal model. The present study showed the potential of incorporating these fermented plant-based beverages into the diet to increase the intake of essential minerals and antioxidants. Toxicological evaluations confirmed the safety of both formulations for human consumption.

**Keywords:** functional beverage; antioxidant; bioaccessibility; neuroprotective effect.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Frutos do caju: castanha de caju (A) e pedúnculo do caju (B).....	27
Figura 2 – Corte longitudinal das estruturas que compõem a castanha de caju.....	28
Figura 3 – Endosperma sólido do coco.....	31
Figura 4 – Frutos de maracujá de diferentes variedades.....	33
Figura 5 – Tanque com dois compartimentos claro e escuro e eletrodos para aplicação do choque elétrico.....	37
Figura 6 – Efeito da M, CA, CA+M, CACC+M, CACC na atividade locomotora do Zebrafish e comportamento do tipo ansioso no teste Novel Tank durante 5 min. (n=6 peixes/grupo).....	49
Figura 7 – Efeito de M, CA, CA+M, CACC+M, CACC na memória do Zebrafish adulto no Teste de Esquiva Inibitória (0-5 min).....	53
Figura 8 – Efeito da CA, MK+CA e MK no índice de retenção de memória do Zebrafish adulto no Teste de Esquiva Inibitória (0-5 min).....	54



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Bebidas elaboradas a base de extratos vegetais com potencial consumo em substituição ao leite.....	25
Tabela 2 – Desenho experimental da mistura simplex-centróide da composição dos extratos hidrossolúveis de castanha de caju e de coco.....	40
Tabela 3 – Bioacessibilidade dos minerais e atividade antioxidante das bebidas antes e após a digestão.....	45
Tabela 4 – Resultados dos testes de toxicidade aguda (96h).....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	Adenosina Desaminase
BAA	Bactéria Ácido Acética
BAL	Bactéria Ácido Láctica
CAT	Atividades da Catalase
COX-2	Ciclooxigenase-2
DA	Doença do Alzheimer (DA)
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis DCV Doenças Cardiovasculares
DP	Doença de Parkinson (DP)
EH	Extratos Hidrossolúveis
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GPx	Glutathione peroxidase
GST	Glutathione-S-transferase
IAL	Instituto Adolf Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IL-6 Interleucina-6
KBI	Kombucha Brewers International MAO Enzima Monoaminérgica
MK-801	Dizocilpina
MUFAs	Ácidos Graxos Monoinsaturados
NMDA	N-metil D-aspartato
NO	Óxido Nítrico
NPSH	Tiol Não Proteico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PUFAs	Ácidos Graxos Poliinsaturados
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)
RNS	Espécies Reativas de Nitrogênio (RNS). SGD Simulação da Digestão Gastrointestinal
SOD	Superóxido Dismutase
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral Alfa

## LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Alimentação e problemas cognitivos.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<b>Benefícios do processo fermentativo.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3</b>	<b>Alimentos vegetais como fonte de probióticos.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.1</b>	<b><i>Kombucha</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4</b>	<b>Extrato hidrossolúvel.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5</b>	<b>Castanha de caju.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5.1</b>	<b><i>Composição nutricional da castanha de caju</i>.....</b>	<b>29</b>
<b>3.6</b>	<b>Coco.....</b>	<b>30</b>
<b>3.6.1</b>	<b><i>Composição nutricional do coco</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>3.7</b>	<b>Maracujá.....</b>	<b>32</b>
<b>3.7.1</b>	<b><i>Composição nutricional do maracujá</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>3.8</b>	<b>Avaliação da aprendizagem e memória com o modelo animal Zebrafish (Danio rerio).....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
<b>5.1</b>	<b>Matérias-primas utilizadas na pesquisa.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2</b>	<b>Elaboração do extrato hidrossolúvel da amêndoa da castanha de caju.....</b>	<b>39</b>
<b>5.3</b>	<b>Elaboração dos extratos fermentados de castanha de caju e coco.....</b>	<b>39</b>
<b>5.4</b>	<b>Caracterização das bebidas fermentadas.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4.1</b>	<b><i>Atividade antioxidante pelo método ABTS</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4.2</b>	<b><i>Determinação de minerais pelo método de espectrometria de absorção atômica e plasma</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>5.4.3</b>	<b><i>Simulação da digestão gastrointestinal (SGD) in vitro para estimativa de bioacessibilidade da atividade antioxidante e conteúdo mineral das bebidas fermentadas</i>.....</b>	<b>41</b>

5.5	Ensaio in vivo com o modelo animal Zebrafish (Danio rerio) para avaliação do potencial neuroprotetor e bioativo das bebidas fermentadas..	42
5.5.1	<i>Toxicidade aguda 96h</i> .....	42
5.5.2	<i>Campo aberto (Novel tank)</i> .....	43
5.5.3	<i>Teste de esquiva inibitória</i> .....	43
5.6	Análise estatística.....	44
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1	Bioacessibilidade dos minerais e da atividade antioxidante das bebidas fermentadas.....	45
6.2	Teste <i>in vivo</i> com o modelo animal Zebrafish (Danio rerio).....	48
6.2.1	<i>Toxicidade aguda 96h</i> .....	48
6.2.2	<i>Atividade Locomotora (Novel Tank)</i> .....	49
6.2.3	<i>Teste de esquiva inibitória</i> .....	52
7	CONCLUSÃO.....	56
8	SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS	57
	REFERÊNCIAS .....	58
	APÊNDICE A – CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO ANIMAL.....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A popularidade e a demanda por substitutos ao leite de vaca aumentaram em todo o mundo nos últimos anos (Penha *et al.*, 2021). O aumento de indivíduos com intolerância à lactose, alergia à proteína do leite de vaca, doenças cardíacas (causadas pelos níveis elevados de colesterol), bem como dietas vegetarianas, veganas e flexitárias contribuíram para o aumento da demanda. Consequentemente as indústrias de alimentos estão investindo no desenvolvimento de novos produtos não lácteos (Silva *et al.*, 2020).

Alguns tipos de substitutos do leite de vaca, como os extratos hidrossolúveis (EH), são provenientes de leguminosas, sementes, oleaginosas, nozes, cereais ou pseudocereais, mas muitos produtos carecem de qualidade nutricional (baixo teor proteico) e apresentam deficiências nas propriedades sensoriais e tecnológicas. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de bebidas vegetais que tenham o valor nutricional agregado e que sejam sensorialmente agradáveis (Vaikma *et al.*, 2021).

As bebidas à base de plantas oferecem uma alternativa sustentável e nutritiva ao leite, com potenciais benefícios para a saúde provenientes de flavonoides, ácidos fenólicos, vitaminas, carotenoides, polifenóis e fitoesteróis e podem também ajudar a mitigar o impacto de diversas doenças (Samtiya *et al.*, 2021; Popova *et al.*, 2023).

Uma tendência secundária dos novos produtos vegetais é a aplicação de um processo de fermentação ao EH (Wang; Chelikani; Serventi, 2018). A fermentação é um processo antigo que envolve crescimento microbiano controlado ou ações enzimáticas para trazer mudanças desejáveis aos produtos alimentícios. A fermentação do ácido láctico é um dos processos mais eficazes e utilizados para conservar os alimentos, aumentar a segurança do alimento, o valor nutritivo e os aspectos sensoriais (Ayub; Castro-Alba; Lazarte, 2021).

As bebidas fermentadas não lácteas podem transportar eficazmente probióticos, prebióticos e compostos bioativos para o intestino, melhorando a saúde humana ao modular o microbioma intestinal (Valero-Cases *et al.*, 2020). Além disso, já é estabelecido que uma dieta baseada em vegetais rica em vitaminas, antioxidantes e fibras pode proteger contra o declínio cognitivo e potencialmente ajudar a prevenir a demência (Ding *et al.*, 2022).

Outro aspecto relacionado ao consumo de alimentos fermentados está na saúde cognitiva. Os produtos alimentares fermentados apresentam potencial para melhorar a memória e a função cognitiva, com potencial para comercialização como opções terapêuticas alternativas para a prevenção e gestão da doença do Alzheimer (DA) (Kumar *et al.*, 2022).

A DA é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma prioridade de saúde pública em todo o mundo. O progresso da medicina moderna aumentou a expectativa

de vida em todo o mundo. No entanto, as doenças neurodegenerativas também aumentam com a idade. A DA é um distúrbio progressivo que se manifesta por comprometimento da memória, cognição e funções comportamentais que, em última análise, levam a alterações de humor e demência (Morozova *et al.*, 2022).

A compreensão da relação entre a dieta e a saúde cognitiva tem se destacado como uma área de interesse crescente na comunidade científica. A busca por alimentos que possam beneficiar não apenas o corpo, mas também a mente, tem conduzido a realização de pesquisas, incluindo a produção de bebidas funcionais fermentadas. Entre essas bebidas, destacam-se como potenciais fontes de compostos bioativos a castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) e amêndoa do coco (*Cocos nucifera*), que podem influenciar positivamente a função cognitiva.

Este estudo visa explorar o impacto das bebidas vegetais funcionais fermentadas, elaboradas a partir de extratos vegetais de castanha de caju, coco ou da combinação destes adicionados de maracujá, na função cognitiva, utilizando testes *in vivo* com o modelo animal Zebrafish (*Danio rerio*) para avaliar seus efeitos neuroprotetores. Além disso, essas bebidas foram avaliadas quanto aos parâmetros físico-químicos, padrões microbiológicos e biodisponibilidade *in vitro*, relacionada à capacidade antioxidante e minerais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Elaborar por fermentação uma bebida nutritiva à base de extratos de castanha, coco e maracujá e avaliar seus benefícios relacionados ao sistema cognitivo através do modelo Zebrafish (*Danio rerio*).

### **2.2 Objetivos Específicos**

1. Elaborar duas bebidas vegetais à base de extratos de castanha de caju e coco;
2. Avaliar o potencial nutricional das bebidas elaboradas através de suas propriedades físicas-químicas e bioativas;
3. Avaliar através da análise da digestão *in vitro* a bioacessibilidade em relação aos minerais (Ferro, Magnésio, Zinco, Manganês, Cobre, Cálcio e Selênio) e capacidade antioxidantes presentes na bebida;
4. Realizar teste *in vivo* com o modelo Zebrafish (*Danio rerio*) dos componentes da bebida em relação a toxicidade e atividade locomotora;
5. Avaliar o potencial efeitos neuroprotetor dos componentes das bebidas através do teste da esQUIVA inibitória com o modelo Zebrafish (*Danio rerio*) que avalia o aprendizado e memória.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Alimentação e Problemas Cognitivos

O aumento global da esperança de vida resultou em um aumento sem precedentes na prevalência de doenças crônicas associadas à idade. O processo de envelhecimento leva a diversas alterações fisiológicas subjacentes. No cérebro, o aumento da vulnerabilidade ao estresse oxidativo, a inflamação crônica e ao comprometimento vascular contribui para a perda de neurônios e sinapses (Theodore *et al.*, 2020). A neurodegeneração e a perda de volume cerebral têm sido associadas à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e as espécies reativas de nitrogênio (RNS). A reatividade dessas moléculas com proteínas, lipídios e DNA cria um caos interno que culmina em apoptose e/ou necrose das células cerebrais, levando à neuroinflamação (Begdache; Marhaba, 2023).

O processo de neurodegeneração baseia-se na disfunção contínua das estruturas nervosas e na perda neuronal, causando progressivamente um efeito prejudicial nas habilidades cognitivas e motoras, como memória, aprendizagem, tomada de decisão, equilíbrio, movimento, fala, respiração e função cardíaca. Entre as doenças relacionadas à idade, a prevalência da neurodegeneração crônica tem crescido cada vez mais nas últimas décadas, sendo uma das preocupações de saúde urgentes mais atuais na sociedade (Rojas-García *et al.*, 2023).

As doenças neurodegenerativas mais comuns são a doença de Alzheimer (DA) e a doença de Parkinson (DP). Na DA, a inibição da função neuronal correta prejudica a comunicação, o que finalmente leva à perda de memória, declínio cognitivo e demência. Esta condição afeta cerca de 1 em 9 pessoas (10,7%) com 65 anos ou mais e cerca de 11 em 10.000 pessoas (0,11%) com menos de 65 anos nos EUA. Foi estimado que cerca de 58,66 milhões de pessoas sofreram de DA em 2020 em todo o mundo, um número que deverá triplicar até 2050 (Rojas-García *et al.*, 2023).

Há vários fatores de risco associados a doenças neurodegenerativas, como por exemplo na doença do Alzheimer, que são fatores genéticos, demográficos, outras doenças associadas, e no estilo de vida como o consumo de álcool, o hábito de fumar, falta de atividade física, desnutrição e uma dieta pobre (Armstrong, 2020).

Neste contexto, a dieta é considerada um importante fator modificável no estilo de vida, capaz de atenuar alterações cognitivas precoces. Uma revisão abrangente de grandes estudos

observacionais ( $\geq 1000$  participantes) e ensaios clínicos com acompanhamento de  $\geq 6$  meses examinou o papel da dieta no declínio cognitivo associado à idade e revelou que, em geral, o consumo de ácidos graxos cadeia longa ( $\omega$ -3), vitaminas B (particularmente folato), vitamina D e antioxidantes como os flavonoides estão associados a taxas mais baixas de declínio cognitivo (Scarmeas *et al.*, 2018).

As substâncias neuroativas são definidas como agentes químicos sintetizados por neurônios que afetam as propriedades de outros neurônios e células musculares. Esses compostos são sintetizados não apenas por humanos, mas também por plantas e microrganismos. Portanto, a presença de compostos neuroativos nos alimentos é inevitável (Yilmaz *et al.*, 2020).

Os compostos neuroativos são sintetizados por certas plantas e microrganismos através da realização de diferentes tarefas, especialmente como resposta ao estresse. Os compostos neuroativos mais comuns nos alimentos são o ácido gama-aminobutírico (GABA), serotonina, melatonina, quinurenina, ácido cinurênico, dopamina, noradrenalina, histamina, triptamina, tiramina e  $\beta$ -feniletilamina. Os alimentos fermentados contêm alguns desses compostos, que podem afetar a saúde e o humor humanos. Como certos alimentos, especialmente alimentos fermentados, contêm compostos neuroativos e seus precursores, como o triptofano, a dieta pode desempenhar um papel importante no humor humano e no eixo intestino-cérebro. Portanto, é necessário concentrar-se nos compostos neuroativos dos alimentos e nos seus potenciais efeitos para a saúde (Yilmaz *et al.*, 2020).

As nozes (ou seja, nozes, incluindo amêndoas, castanhas do Brasil, castanhas de caju, avelãs, macadâmias, nozes, pinhão, pistache e nozes; e amendoins) são parte integrante de dietas baseadas em vegetais e têm um perfil nutricional ideal, sendo particularmente abundante em moléculas antiinflamatórias e antioxidantes, como ácidos graxos insaturados, minerais, vitaminas e polifenóis; além disso, seu consumo frequente está associado a uma redução consistente no risco de doenças cardiovasculares (DCV). Devido ao fato de que os fatores de risco cardiovascular e as DCV têm ligações bem estabelecidas com a neurodegeneração e o envelhecimento pouco saudável, supõe-se que o consumo de nozes, já é bem conhecido por beneficiar a função vascular, também favorece a cognição e a saúde geral do cérebro (Nishi *et al.*, 2023).

Em estudo *in vivo* realizado por Akomolafe & Asowata-Ayodele (2022) avaliando o impacto neuroprotetor da dieta enriquecida com castanha de caju torrada contra déficits

cerebrais relacionados ao tratamento com cisplatina. Apresentou impacto inibitório nas atividades de colinesterases (AChE e BChE), adenosina desaminase (ADA), enzima monoaminérgica (MAO) e arginase em ratos induzidos por cisplatina. Também melhorou o equilíbrio redox e apresentou proteção contra danos oxidativos induzidos pela cisplatina no cérebro dos ratos por um aumento nas atividades de superóxido dismutase (SOD), atividades da catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) e glutathione peroxidase (GPx), níveis de capacidade antioxidante total, tiol total (T-SH), tiol não proteico (NPSH) e óxido nítrico (NO), bem como uma queda considerável nos níveis de ROS e ácido tiobarbitúrico. A dieta melhorada com castanha de caju torrada também preveniu a degeneração neuronal no cérebro de ratos.

As frutas e especialmente as bagas são de especial interesse para a neuroproteção porque contêm uma grande variedade de antioxidantes, são palatáveis e habitualmente consumidas na dieta (Tal *et al.*, 2016).

O maracujá é rico em diferentes vitaminas e minerais (como vitamina C, A, B2 e B3, ácido fólico, cálcio, magnésio, fósforo, potássio, ferro e zinco), carboidratos e fibras alimentares. Além disso, estudos anteriores mostraram que extratos de maracujá, suco e compostos isolados têm diferentes efeitos na saúde e atividades biológicas, incluindo atividades antioxidantes, anti-hipertensivas, antitumorais, antidiabéticas e hipolipidêmicas (Prasertsri *et al.*, 2024).

Estudos também vêm sendo realizados para avaliar os efeitos do maracujá na função cognitiva. Um ensaio clínico realizado com ratos com Alzheimer induzido por cloreto de alumínio, avaliou os efeitos de três extratos da fruta *Passiflora Edulis* da casca, fração flavonoide e o suco na função cognitiva. Este estudo resultou em uma diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) nos níveis plasmáticos e teciduais de malondialdeído em comparação com o controle positivo (PC). Os níveis de fator de necrose tumoral alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6), ciclooxigenase-2 (COX-2) e amiloide  $\beta$ -42 ( $\beta$ -42) foram significativamente reduzidos, enquanto as CAT, SOD, GPx e nível de glutathione foram significativamente maiores nos grupos de ratos com Alzheimer (PC) tratados do que nos não tratados ( $P < 0,05$ ) (Doungue *et al.*, 2018).

O coco também foi identificado como um potencial fortalecedor cognitivo. Os derivados do coco, como no caso o óleo de coco, pode reduzir a neurotoxicidade cerebral induzida por arsênico e restaurar a histologia quase normal em ratos, fortalecendo a defesa antioxidante e a função colinérgica (Azubuiké-Osu *et al.*, 2021). Em outro estudo, o óleo de coco virgem apresenta propriedades neuroprotetoras contra a neuroinflamação induzida por

lipopolissacarídeos e comprometimento da memória em ratos, com benefícios potenciais através de vias inflamatórias, colinérgicas e amiloidogênicas (Rahim *et al.*, 2020).

### 3.2 Benefícios do processo fermentativo

Bebidas fermentadas são aquelas que foram submetidas a um processo de fermentação e existem basicamente quatro tipos principais desse processo: fermentação alcoólica, ácido láctico, ácido acético e fermentação alcalina (Kaur *et al.*, 2019). Os principais microrganismos envolvidos para produzir bebidas fermentadas lácteas e não lácteas são bactérias pertencentes ao gênero *Lactobacillus* (De la Fuente *et al.*, 2020).

Apesar da crescente demanda da variedade de bebidas fermentadas, as prateleiras do mercado em sua maioria são ocupadas por fermentados de origem láctea. No entanto, na última década testemunhou o advento de produtos fermentados não lácteos, porém que sofreram uma baixa participação de mercado por muitos anos. Apesar disso, levando em consideração as restrições alimentares devido a intolerância a lactose ou alergia à proteína do leite de vaca e a crescente tendência vegana, os pesquisadores de alimentos estão desenvolvendo produtos alternativos que podem substituir os laticínios fermentados da dieta de certas populações (Zhu *et al.*, 2020).

A fermentação não requer equipamentos sofisticados para realização do seu processo ou o subsequente manuseio e armazenamento de produtos fermentados. A fermentação gera mudanças que influenciam diretamente nas propriedades físicas, químicas, biológicas e sensoriais dos produtos finais fermentados (Xiang *et al.*, 2019).

Os impactos da fermentação nos alimentos são específicos do microrganismo, dependentes da matéria-prima, podem ser modificados posteriormente por condições ambientais externas e influenciados por outros processos associados à fermentação. É importante notar que as propriedades físicas, incluindo atributos reológicos dos alimentos podem mudar após a fermentação, e essas mudanças, por sua vez, influenciam as propriedades químicas, biológicas e sensoriais dos alimentos fermentados finais (Xiang *et al.*, 2019).

Durante a fermentação, os componentes dos alimentos nas matérias-primas comestíveis e às vezes não comestíveis são enzimaticamente e quimicamente quebrados. Como resultado, a qualidade sensorial, valor nutricional e propriedades de promoção da saúde dos produtos fermentados são melhorados de maneira segura e eficaz (Xiang *et al.*, 2019).

Em estudo realizado por Xia *et al.* (2019) com desenvolvimento de uma bebida funcional através do extrato hidrossolúvel de soja fermentado com kombucha, apresentou redução do conteúdo da rafinose e estaquiose, que são carboidratos indigeríveis, pela presença da enzima  $\alpha$ -galactosidase produzida pelas bactérias encontradas na kombucha após a fermentação.

A segurança alimentar dos alimentos fermentados com probióticos é aumentada, devido aos efeitos inibitórios sobre as bactérias patogênicas por conta das bacteriocinas antimicrobianas produzidas por cepas probióticas como as espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus* (Xia *et al.*, 2019).

A fermentação promove a formação de ácido orgânico, e os ácidos orgânicos permitem a produção de ligantes solúveis com oligoelementos no sistema gastrointestinal. Assim, a absorção de alguns minerais, especialmente zinco e ferro, é melhorada. A enzima fitase, encontrada no ácido láctico, bactérias e leveduras, é responsável pela hidrólise do fitato, tornando assim maior a sua digestibilidade (Aydar *et al.*, 2020).

Durante a fermentação, há um aumento acentuado do valor nutricional dos produtos finais, em termos de aumento da bioacessibilidade e biodisponibilidade de compostos bioativos (Annunziata *et al.*, 2020). No extrato de soja por exemplo, culturas de bactérias lácticas, que produzem a enzima  $\beta$ -glucosidase, são usadas para converter isoflavonas conjugadas em formas de aglicona. Essas formas são mais facilmente absorvidas, apresentando, portanto, melhor biodisponibilidade (Penha *et al.*, 2020).

As bactérias lácticas também têm sido utilizadas na fermentação de extratos vegetais para aumentar a capacidade antioxidante (Penha *et al.*, 2020). Em estudo desenvolvido por Wang *et al.* (2006) com extrato hidrossolúvel de soja fermentado com bactérias lácticas e bifidobactérias, apresentou atividade antioxidante significativamente maior utilizando as bactérias simultaneamente do que o fermentadas individualmente.

### **3.3 Alimentos vegetais como fonte de probióticos**

Probióticos são definidos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro”. Esses microrganismos proporcionam vários efeitos benéficos, principalmente relacionados à saúde gastrointestinal e ao sistema imunológico, bem como diabetes, obesidade, hipercolesterolemia, câncer, entre outros (Bellis; Sisto; Lavermicocca, 2021; Pimentel *et al.*, 2021)

A grande maioria dos probióticos são bactérias ácido lácticas como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e outros gêneros como *Enterococcus*, *Saccharomyces* e *Pediococcus* (Behera; Parda, 2020).

Atualmente os probióticos estão disponíveis no mercado em preparações à base de leite, produtos fermentados ou em fórmula desidratada (Bellis; Sisto; Lavermicocca, 2021). Os probióticos têm sido usados predominantemente em laticínios, já que conferem um meio de cultura favorável para a viabilidade probiótica (Lillo-Pérez *et al.*, 2021). No entanto, pela crescente quantidade de indivíduos intolerantes à lactose, alergia à proteína do leite e mudança no estilo de vida para o veganismo, há uma demanda crescente por alternativas não-lácteas (Rasika *et al.*, 2021).

Existem vários tipos de alimentos probióticos não-lácteos disponíveis para o consumo. Como exemplo podem ser citadas bebidas à base de extratos hidrossolúveis e frutas que são fermentadas a partir de bactérias ácido lácticas, assim como também temos o kefir e a kombucha. Essa última é uma bebida fermentada a partir do chá e açúcar por uma cultura simbiótica de bactérias (*Gluconacetobacter*, *Acetobacter* e *Lactobacillus*) e leveduras (*Zygosaccharomyces*), que dominam a fermentação (Behera; Panda, 2020; Rincon; Botelho; Alencar, 2020).

### **3.3.1 Kombucha**

Kombucha é uma bebida milenar de origem asiática obtida pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* (chá preto ou verde) e açúcares fermentado por um filme de celulose polimérica denominado Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY), que confere as características da bebida (Coelho *et al.*, 2020; Júnior *et al.*, 2021; Vargas; Fabricio; Ayub, 2021).

Tradicionalmente, a kombucha é feita em casa, baseado em um preparo muito simples, porém atualmente também está disponível comercialmente. O tempo de fermentação costuma durar de 7 a 14 dias e no final, o SCOBY é retirado da kombucha junto com um pequeno volume da bebida pronta para ser usada como cultura inicial nas próximas fermentações. Possui um agradável sabor frutado, azedo, espumante devido à presença de ácidos orgânicos e o dióxido de carbono liberado durante a fermentação (Laavanya; Shivanand; Balasubramanian, 2021; Vargas; Fabricio; Ayub, 2021).

A kombucha possui vários benefícios à saúde, além dos seus efeitos probióticos. Esses

benefícios incluem efeitos antidiabéticos, anticancerígenos, tratamento para úlcera gástrica e hipercolesterolemia, possui atividade anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana, melhora do sistema imunológico e funções gastrointestinais, prevenção de doenças neurodegenerativas, redução da pressão arterial (Laavanya; Shivanand; Balasubramanian, 2021; Silva *et al.*, 2021; Sharifudin *et al.*, 2021).

Os benefícios atribuídos a essa bebida são relacionados ao processo de fermentação, onde um complexo consórcio microbiano produz metabólitos, identificados principalmente como ácidos orgânicos (glucurônico, acético), vitaminas (C, B 1 , B 2 , B 12 ), minerais e enzimas (Silva *et al.*, 2021).

O consórcio microbiano da kombucha compreende leveduras (*Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora*) e BAA (Bactéria Ácido Acética) (*Komagataeibacter*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*) (Barbosa *et al.*, 2021). Entretanto, estudos já confirmam uma quantidade significativa de BAL (Bactérias Ácido Láctica) na bebida (Marsh *et al.*, 2014; Coton *et al.*, 2017). Os Lactobacilos são mais abundantes na kombucha do que se pensava anteriormente, principalmente nas fases posteriores da fermentação (Vukić *et al.*, 2021).

Um grande número de empresas de kombucha eram bem estabelecidas em todos os Estados Unidos ao longo de algumas décadas, tornando fácil encontrar produtos comerciais de kombuchá, até mesmo nas lojas de varejo locais. Com isso, o crescimento da indústria da kombuchá, em 2014 uma organização sem fins lucrativos chamada Kombucha Brewers International (KBI) foi criada para ajudar com os regulamentos e legislações relacionadas. A partir de novembro de 2019, existem 235 empresas em todo o mundo que estão inscritas como membros desta organização. Membros da KBI compartilham informações, como as melhores práticas para fabricantes de kombucha, como medir o álcool, Análise de Perigos e Controles Preventivos Baseados em Riscos, que se faz necessário pois é definida como uma bebida fermentada obtida por um processo especializado (Kim; Adhikari, 2020; Coelho *et al.*, 2020).

### **3.4 Extrato hidrossolúvel**

Extrato hidrossolúvel é um tipo de bebida vegetal que entre seus objetivos possui a finalidade de substituir o leite e são obtidos por meio do processo da extração da matéria vegetal de cereais, pseudocereais, oleaginosas e leguminosas. Há vários tipos de matérias-primas

utilizadas atualmente para elaboração dessas bebidas como a soja, amêndoa, arroz, coco, aveia, ervilha, etc. Os consumidores que buscam esse tipo de bebida vegetal são aqueles que apresentam alguma restrição alimentar como alergia ao leite de vaca, intolerância à lactose ou dieta específica, assim como os adeptos ao vegetarianismo, veganismo e flexitarianismo (Patra *et al.*, 2021; Penha *et al.*, 2021).

O extrato feito do coco é obtido do endosperma de cocos maduros, com ou sem adição de água, e contém aproximadamente 54% de umidade, 35–37% de gordura e 9–11% de sólidos desengordurados e é estabilizada principalmente por proteínas e fosfolipídios do coco (Abadi *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2024). É rico em muitas vitaminas e minerais, bem como aminoácidos e lipídios essenciais. Um subproduto do coco, o óleo de coco, consiste principalmente em ácidos graxos saturados (> 90%), com a maioria de ácidos graxos de cadeia média (45–55%), tornando-o superior em sua composição e metabolismo. O óleo de coco contém importantes componentes bioativos, incluindo vitamina E e polifenóis, que conferem funções fisiológicas (Chen *et al.*, 2024).

A castanha de caju apresenta altos níveis de proteína (23%) com todos os aminoácidos essenciais para o ser humano, e lipídios (44%), sendo os ácidos graxos mono e poliinsaturados os principais componentes. O extrato desta matéria prima se assemelha ao leite na aparência, com boa composição nutricional e pH em torno de 6,5 (Bruno *et al.*, 2020). A composição nutricional apresenta teores significativos de ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados (PUFAs e MUFAs) bem como ácido ascórbico, ácidos fenólicos, carotenóides, fitoesteróis, flavonóides, açúcares redutores, carboidratos, proteínas e minerais (Weis *et al.*, 2024).

De modo geral as etapas que envolvem a elaboração dos extratos à base de amêndoa (*Prunus dulcis*), caju (*Anacardium occidentale*), coco (*Cocos nucifera*), avelã (*Corylus*), amendoim (*Arachis hypogaea*), gergelim (*Sesamum indicum*), soja (*Glycine max*), noz de tigre (*Cyperus esculentus*), aveia (*Avena sativa*), arroz (*Oryza sativa*) e ou noz (*Juglans*), entre outros, são: moagem úmida, filtração, adição de ingredientes, esterilização, homogeneização, embalagem asséptica e armazenamento refrigerado (Aydar *et al.*, 2020).

Os EH são frequentemente vistos como produtos ecologicamente corretos, pois a sua fabricação possibilita a redução de alguns impactos ambientais, incluindo menor emissão dos gases de efeito estufa, a redução da carga hídrica e potencial de redução das mudanças climáticas e da ecotoxicidade, além de exigir menos terras em comparação com a indústria de laticínios convencional (Aydar *et al.*, 2020; Vaikma *et al.*, 2021).



A composição nutricional dos EH são variáveis conforme os macros e micronutrientes e os compostos bioativos. Quanto aos compostos bioativos, por exemplo, a bebida à base de soja contém isoflavonas e fitoesteróis; bebida à base de amêndoa contém  $\alpha$ -tocoferol e arabinose; bebida à base de aveia contém  $\beta$ -glucana (Fructuoso *et al.*, 2021). Em contrapartida, algumas dessas bebidas (amêndoa, arroz e aveia), contêm quantidades mínimas de proteínas, cálcio e ferro quando comparadas ao leite de vaca. Portanto, uma desvantagem comum da maioria dessas bebidas de origem vegetal é o baixo teor proteico (Rincon; Botelho; Alencar, 2020) Isso é um fator preocupante já que as bebidas vegetais são popularmente chamadas “leites vegetais” e os consumidores interpretarem como um substituto nutricional adequado do leite de vaca (Chalupa-Krebzdak *et al.*, 2018).

A indústria de alimentos vem desenvolvendo bebidas vegetais enriquecidas de nutrientes que normalmente são encontrados no leite, como cálcio, iodo, vitamina B12 e riboflavina. Independentemente de sua deficiência nutricional em comparação com o leite, os EH também contêm outros compostos importantes para a saúde não encontrados no leite, como fibras dietéticas, vitaminas, minerais e antioxidantes (Patra *et al.*, 2021).

Além da composição nutricional que os EH apresentam naturalmente, estes são considerados funcionais, pois podem oferecer atividade antioxidante, redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer, aterosclerose e diabetes. Pistollato *et al.* (2018) observaram em seus estudos que uma dieta rica em vegetais, incluindo soja e nozes, reduziram os riscos de doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas, bem como a doença de Alzheimer.

As nozes têm um perfil ideal de ácidos graxos, com alta concentração de gorduras monoinsaturadas e poliinsaturadas e baixa concentração de gorduras saturadas. Além disso, algumas nozes são fontes alimentares ricas em ácido  $\alpha$ -linolênico, um ácido graxo n-3 de origem vegetal. Além disso, as nozes são fontes alimentares substanciais de fibras, vitaminas B, minerais e compostos antioxidantes (Theodore *et al.*, 2020).

Desta forma os EH desenvolvidos por nozes, cereais e sementes oleaginosas têm inúmeros benefícios para a saúde humana, devido ao seu conteúdo rico em compostos bioativos, macronutrientes, micronutrientes e fitoquímicos. Ácidos graxos insaturados, fibras, proporção de minerais bem balanceados, selênio, polifenóis, tocoferóis e fitoesteróis são algumas substâncias que justificam a utilização destes EH para a manutenção de um organismo saudável. A quantidade total de fitosterol em nozes e em sementes variam de 15,9 mg/100 g para as

castanhas a 255,2 mg/100 g para pistaches em peso seco (Wang *et al.*, 2019).

Os benefícios associados a ingestão dos EH pela presença dos ácidos graxos insaturados e fitoesteróis são: redução do colesterol, prevenção do câncer, modulação do sistema imunológico, proteção da pele contra o envelhecimento, além disso, podem reduzir o risco de doenças cardíacas, derrame e ataques cardíacos. O alto teor de antioxidante, pode possibilitar prevenção contra os cânceres de ovário, mama, estômago, próstata e pulmão (Aydar *et al.*, 2020).

Achoribo (2017), afirma que o betasitosterol, encontrado em vegetais, frutas, nozes, legumes, e consequentemente em EH utilizados como substitutos do leite animal, pode impedir o crescimento de células de adenocarcinoma colorretal em humanos.

Os fitoesteróis participam da modulação do sistema imunológico, por meio do aumento da atividade de células que são projetadas para o reconhecimento, resposta e lembrança de antígenos. Além disso, os fitoesteróis também promovem a produção de colágeno (Aydar *et al.*, 2020).

Uma desvantagem dos EH além da quantidade limitada de proteína seria a redução da biodisponibilidade de alguns minerais como o cálcio, ferro, magnésio e zinco. Isso ocorre pela presença dos fatores antinutricionais, como os fitatos, encontrados em sementes, cereais e leguminosas. Esses formam complexos insolúveis como resultado da reação com os cátions dos minerais, portanto, a absorção desses minerais diminui (Aydar *et al.*, 2020).

Os EH de nozes, cereais e sementes oleaginosas apresentam substâncias bioativas que possibilita auxílio no sistema inflamatório, suprimindo o estresse oxidativo, e consequentemente, a redução de uma série de patologias importantes, bem como o risco de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes tipo 2 e hipertensão (Zec; Glibetic, 2018; Aydar *et al.*, 2020).

As alternativas ao leite de vaca, os EH, apresentam algumas diferenças consideráveis, como a composição de macronutrientes. A quantidade de proteínas do leite vegetal geralmente é inferior a do leite de vaca, no entanto as fibras e o teor de ácidos graxos insaturados são consideravelmente maiores, apresentando-se também livres de colesterol. As isoflavonas também são encontradas nessas alternativas de leite a base de vegetal, em especial o leite de soja, e tem potencial para redução do risco de cânceres. No entanto, o leite de vaca não possui isoflavonas, mas apresentam maior aceitabilidade do consumidor por apresentar sabor mais agradável, sendo associado a sua quantidade de lactose naturalmente existente (Aydar *et al.*, 2020).

Na Tabela 1 encontram-se alguns exemplos de estudos de bebidas elaboradas a base de extratos vegetais, seguidas de seus potenciais benefícios.

**Tabela 1:** Bebidas elaboradas a base de extratos vegetais e seus potenciais benéficos

<b>Base do extrato vegetal</b>	<b>Potenciais benefícios</b>	<b>Referências</b>
Castanha de caju	Melhora da função cognitiva Redução do colesterol sanguíneo Vitaminas (folato, riboflavina e tocoferóis) Fitoesteróis Polifenóis	Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017.
	$\beta$ -Sitosterol (2,7 mg/100 mL) Campesterol (279 $\mu$ g/100 mL) Estigmasterol (15 $\mu$ g/100 mL)	Xie et al., 2023.
	Atividade antioxidante Flavonóides (catequina, epicatequina e epigallocatequina)	Mendes <i>et al.</i> , 2019.
	Fibra (0,2g/100ml) Proteína (0,5g/100ml) Gordura (1,1g/100ml) Vitamina D (0,75 $\mu$ g) Vitamina E (1,8mg) Vitamina B2 (0,21mg) Vitamina B12 (0,38 $\mu$ g) Cálcio (120 mg)	Popova; Mihaylova; Lante, 2023.
<b>Coco</b>	Fenólicos totais: 295,83mg GAE/L Atividade antioxidante: 412,5mg de vitamina C EQ/L	Tulashie <i>et al.</i> , 2022.

	Fibra (0,1g/100ml) Proteína (0,1g/100ml) Gordura (0,9g/100ml) Vitamina D (0,75 µg) Vitamina B12 (0,38 µg) Cálcio (120 mg)	Popova; Mihaylova; Lante, 2023.
<b>Soja</b>	Alto teor de ácidos graxos mono e poliinsaturados Proteína de alta qualidade, Fosfatidilcolina Vitaminas B Isoflavonas	De <i>et al.</i> , 2022.
	Minerais totais (0,4 a 0,5%) Proteínas (3,5% a 4,0%) Cálcio (18,5 mg/100 mL) Ferro ( 0,5 mg/100 mL) Zinco (0,3 mg/100 mL) Compostos fenólicos totais ( 0,09 GAE (g/kg amostra) Atividade antioxidante total (3,4 TEAC (mmol Trolox/kg amostra)	Idowu-Adebayo, F. V. Fogliano; A, Linnemann. 2022.
<b>Aveia</b>	Reduz o risco de doença coronariana Diminui a glicemia Modula a microbiota intestinal	Tosh & Bordenave, 2020.
	Fibra (0,5g/100ml) Proteína (1,04g/100ml) MUFA (0,24g/100ml) PUFA (0,28g/100ml)	Pérez-Rodríguez et al., 2023.
<b>Sementes de gergelim</b>	Antioxidantes Redução do colesterol	Wei <i>et al.</i> , 2022.

	Proteção do sistema cardiovascular Antiinflamatório Antitumoral	
	Compostos Fenólicos: 14,90 mg GAE/100 mL de bebida Flavonoides: 5,37 mg QE/100 mL de bebida	Quintero-Soto <i>et al.</i> , 2022.

**Fonte:** Autora (2024).

### 3.5 Castanha de caju

O cajueiro (*Anacardium occidentale L*) é uma árvore nativa do norte e nordeste do Brasil. Segundo Lisboa *et al.* (2020) castanha é o verdadeiro fruto, formado pelo pericarpo e pela semente ou amêndoa, e o pedúnculo é o pseudofruto. Os produtos podem ser obtidos tanto da fração líquida do pedúnculo como na fração fibrosa (Gazzola *et al.*, 2018)

A amêndoa da castanha de caju apresenta uma vasta classificação que é estabelecida em função dos seus requisitos de identidade e de qualidade sendo divididas em classes, subclasses e tipos. Estas classificações estão relacionadas ao seu tamanho, cor e se estão inteiras ou não (Brasil, 2017).

**Figura 1.** Frutos do caju: castanha de caju (A) e pedúnculo do caju (B).

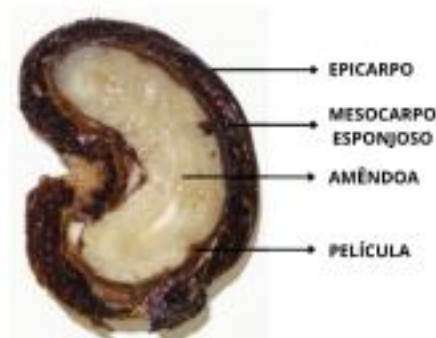


**Fonte:** Sucupira *et al.*, (2020).

A castanha de caju apresenta uma grande importância socioeconômica e industrial, é amplamente utilizada como aperitivos e lanches ou como ingredientes em diferentes produtos alimentícios e são altamente valorizadas por suas características sensoriais, nutricionais e de saúde que apresentam ricas fontes de fitoquímicos com atividades antioxidantes, anticancerígenas, antimutagênicas. Esses fitoquímicos fornecem proteção direta ou indiretamente contra radicais livres prejudiciais e pode reduzir o risco de doenças crônicas não

transmissíveis (DCNT) associadas a estresse oxidativo (Muniz *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2016; Mendes *et al.*, 2019). A castanha representa 10% do peso total do caju, pode pesar em média 7g. A castanha é dividida em epicarpo, mesocarpo esponjoso, película e a amêndoa (Figura 1). Esta última é a parte comestível da castanha, formada por dois cotilédones de cor marfim, representa cerca de 28% a 30% do seu peso, porém no processo industrial o rendimento médio é de apenas 21% (Paiva; Garrutti; Neto, 2000; Gazzola *et al.*, 2018).

**Figura 2.** Corte longitudinal das estruturas que compõem a castanha de caju



**Fonte:** Adaptado de Câmara (2010)

De acordo com IBGE (2021), o maior produtor brasileiro de castanha de caju é o Ceará, em segundo o Piauí e em terceiro o Rio Grande do Norte. A produção do Ceará, de 68,6 mil toneladas, representa 55,7% do total nacional; a do Piauí, de 25,2 mil toneladas, 20,4% e a do Rio Grande do Norte, de 17,1 mil toneladas, 13,9%.

As castanhas apresentam uma mistura singular de compostos neuroprotetores. São particularmente ricos em gorduras (principalmente MUFA's e PUFA's) e fibras solúveis, proteínas vegetais de alta qualidade, vitaminas (folato, riboflavina e tocoferóis), fitoesteróis, polifenóis, minerais e oligoelementos. No grupo das nozes, a mais consumida são respectivamente as castanhas de caju, macadâmias, pistache, avelãs, amêndoas e nozes (Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017).

Numerosos estudos experimentais e epidemiológicos correlacionaram o consumo de nozes com melhor desempenho cognitivo. Atividades antioxidantes, anticolinesterásicas, procolinérgicas e redutoras de colesterol também foram sugeridos como possíveis mecanismos de ação (Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017).

Estudos realizados em uma coorte de voluntários espanhóis adultos e idosos

saudáveis, avaliou a ingestão de nozes (30g / dia de nozes mistas) associado a uma dieta Mediterrânea, esse padrão alimentar mostrou função cognitiva melhorada em comparação com um grupo de controle alimentado apenas com uma dieta de baixo teor de gordura (Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017).

As castanhas são ricas fontes de antioxidantes, como os compostos fenólicos (taninos, ácido elágico, curcumina e flavonóides - luteolina, quercetina, miricetina, kaempferol, resveratrol) e isoflanovas (genisteína e daidzeína). A castanha de caju, por exemplo tem quantidades significativas de alquil fenóis (Carvalho *et al.*, 2012; Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017).

As isoflavonas (genisteína, daidzeína, glicetina) apresentam atividade benéfica atribuível ao agonismo estrogênico via receptores beta presentes no cérebro. Estudos apoiam o suposto aumento da atividade colinérgica e possíveis efeitos neuroprotetores. (Bonetti; Brombo; Zuliani, 2017).

### **3.5.1 Composição nutricional da castanha de caju**

As castanhas de caju são ricas em lipídios (42,6%), proteínas (20,0%) e fibras (5,9%). Apresenta 575 kcal de energia em 100 g sendo a fração lipídica constituída por ácido oleico (60,30%), ácido linoléico (21,53%), ácido palmítico (8,77 %) e ácido esteárico (7,92%). Além dos macronutrientes, podemos encontrar nas castanhas compostos fenólicos como flavonóides (catequina, epicatequina e epigallocatequina) e ácidos fenólicos (ácido síngico, ácido gálico e ácido p-cumárico) (Muniz *et al.*, 2013; Mendes *et al.*, 2019).

A castanha de caju é uma boa alternativa de fonte proteica vegetal na dieta. É fonte de minerais como, ferro, fósforo, magnésio, cálcio, potássio e selênio, e vitaminas E, K, B6 e C. É fonte de aminoácidos essenciais, inclusive a arginina, que auxilia no controle da hipertensão. Enquanto a recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS) de miligramas de aminoácidos/ grama de proteína da histidina é 16mg, isoleucina de 31mg, leucina 61mg, lisina de 48mg, metionina 24 mg, fenilalanina 41mg, treonina 25mg, triptofano 6,6mg e valina é 40mg, a quantidade encontrada na castanha do caju é de 28,4mg para histidina, isoleucina de 31,2mg, leucina 69,5mg, lisina de 49,6mg, metionina 30 mg, fenilalanina 72,1mg, treonina 37,1mg, triptofano 16,9mg e valina é 40,2mg (Freitas *et al.*, 2012).

Também foram identificados nas castanhas fitoesteróis, fibras e da porção lipídica a gordura monoinsaturada, que auxiliam no aumento dos níveis séricos de HDL. Assim, a castanha de caju é uma boa opção para a complementação de macro e micronutrientes na dieta (Sousa *et al.*, 2021).

### 3.6 Coco

*Cocos nucifera L.*, conhecido popularmente como coco, é um importante membro da família dos Arecaceae (Palmae) e subfamília Cocoideae e é originário do sudeste asiático (Malásia, Indonésia e Filipinas) e das ilhas entre os oceanos Índico e Pacífico. É uma árvore frutífera muito importante no mundo, proporcionando comida para milhões de pessoas, especialmente nas regiões tropicais e regiões subtropicais (Debmandal; Mandal, 2011; Lima; Vasconcelos, 2015). Os alimentos e produtos industriais derivados do coco desempenham um papel importante no incentivo à economia de muitos países em desenvolvimento (Zhou;Yarra;Cao, 2020).

A maioria dos países que fazem o cultivo utilizam os seus frutos com os objetivos de explorar comercialmente a polpa seca do coco, chamada de copra para produção de óleo e coco seco desidratado. No Brasil, o coqueiro é cultivado com a finalidade de produzir frutos destinados à agroindústria para produção principal de coco ralado e leite coco, além da água de coco (Ignacio; Miguel, 2021; Martins; Junior, 2014).

As partes estruturais do coco consistem basicamente em epicarpo, mesocarpo, endocarpo e endosperma. O endosperma é o componente mais valioso da fruta, é dividido na forma líquida chamado de água de coco e o outro na forma sólida (Li *et al.*, 2009; Gevásio, 2017; Manivannan *et al.*, 2018). O endosperma líquido está em alta demanda como um produto com propriedades isotônicas atribuídas devido ao seu teor de minerais, açúcar e vitaminas. Já o endosperma sólido, forma uma camada de revestimento branco no interior da casca (Figura 3) (Ignacio; Miguel, 2021).



**Figura 3.** Endosperma sólido do coco



**Fonte:** Adaptado de Mühlbauer; Müller, 2020.

O caroço de coco (endosperma sólido) é a principal parte comestível do coco e é utilizado para a produção de óleo refinado e não refinado, leite de coco, farinha de coco e tiras. Esses ingredientes são amplamente utilizados para fins alimentícios, principalmente na produção de produtos de panificação e confeitaria (Kotecka-Majchrzak, 2020). O endosperma sólido é caracterizado por um conteúdo significativo de carboidratos, principalmente sacarose, gordura (incluindo principalmente ácidos graxos saturados), proteínas, fibras e minerais, bem como polifenóis e tocoferóis com propriedades antioxidantes. A proteína da farinha de coco desengordurada consiste principalmente nas frações globulina e albumina, responsáveis por 40% e 21% da proteína total, respectivamente (Kotecka-Majchrzak, 2020).

Até o momento, nenhuma alergia alimentar às proteínas do coco foi confirmada, ao passo que as propriedades bioativas dessas proteínas, principalmente a atividade antioxidante, foram descritas. As frações globulina, glutelina e prolamina exibem boa atividade de eliminação de radicais e capacidade quelante de íons e também protegem o DNA de danos oxidativos. Vários peptídeos potencialmente biologicamente ativos derivados de globulina e frações de glutelina do coco foram identificados (Kotecka-Majchrzak, 2020).

Uma análise realizada por Narayanankutty *et al.* (2021), revelou a presença de ácidos fenólicos, como ácido pró-tocatecuico e ácido 4-hidroxibenzóico, ácido ferúlico, bem como flavonóides incluindo catequina e quercetina em compostos do coco, também foi relatada a presença de epicatequina, rutina e miricetina.

Narayanankutty *et al.* (2021) indicou que em um estudo anterior, os compostos fenólicos presentes no coco evitaram as modificações oxidativas na albumina sérica, exibindo posteriormente potenciais antioxidantes. Além disso, a eficácia de eliminação do radical de

óxido nítrico *in vitro* e os potenciais inibidores da lipoxigenase indicaram a atividade antiinflamatória dos polifenóis isolados.

Ainda relatado nos estudos realizados por Narayanankutty *et al.* (2021), a utilização de produtos com coco, reduziram significativamente os níveis de peroxidação lipídica celular. Além da eficácia citoprotetora e antioxidante, os polifenóis testados apresentaram propriedades antiinflamatórias em macrófagos.

Além disso, os níveis de óxido nítrico celular também são reduzidos pelos polifenóis. Portanto, o estudo confirma o papel citoprotetor mediado por antioxidantes de compostos polifenóis derivados de produtos do coco, bem como endosperma sólido e líquido. Além disso, as propriedades antiinflamatórias desses compostos também são evidentes a partir das propriedades inibitórias da produção de citocinas de macrófagos (Narayanankutty *et al.*, 2021).

### 3.6.1 Composição nutricional do coco

Em relação a sua composição nutricional, possui altas concentrações de gorduras, antioxidantes e minerais como ferro, magnésio e zinco (Mesquita *et al.*, 2020). O endosperma sólido de coco contém 55-65% de ácido láurico (C12:0), o principal ácido graxo. Já o óleo de coco tem mais de 90% de ácidos graxos saturados e é deficiente em ácidos graxos monoinsaturados (6%) e ácidos graxos poliinsaturados (1%), onde aproximadamente 52,68% de ácido láurico (C12: 0), 17,14% de ácido mirístico (C14: 0), 8,44% de ácido palmítico (C16: 0), 6,85% de ácido caprílico, 6,02% de ácido oleico (C18: 1) e 1,29% de ácido esteárico (C18: 0) (Gao *et al.*, 2014; Zhou; Yarra; Cao, 2020).

### 3.7 Maracujá

O maracujá, que é uma combinação de plantas do gênero *Passiflora*, é uma fruta tropical bem conhecida pelo seu sabor e aroma. É amplamente plantado na América do Sul, América Central, Sudeste Asiático e China e as duas principais variedades são Maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. Flavicarpa*) e roxo (*Passiflora edulis Sims*). É composto por 40% de polpa comestível e 60% de casca, sendo esta última frequentemente descartada após o processamento (Lin *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021).

**Figura 4.** Frutos de maracujá de diferentes variedades



**Autor:** Adaptado de Zhang *et al.* (2023).

Os principais compostos voláteis responsáveis pelo aroma são das classes dos ésteres, terpenos e aldeídos. Os ésteres butanoato de etila e hexanoato de etila contribuem para o aroma doce, frutado e floral característico do maracujá. Os terpenos alfa-terpineol, beta-mirceno, limoneno e gama-terpinoleno para o aroma floral e frutado do maracujá, e os aldeídos hexanal e octanal para o aroma verde da fruta. Aldeídos e álcoois (C 6) são os principais compostos voláteis em frutas maduras (Janzantti; Monteiro, 2014).

Além das propriedades aromáticas, o maracujá é popularmente conhecido pelos seus efeitos nos distúrbios do sistema nervoso central (ansiolítico, sedativo e antidepressivo) e possui propriedades anti-hipertensivas (Figueiredo *et al.*, 2016; Oluoch; Nyaboga; Bargul, 2018). A fruta possui também atividade antiinflamatória e ação antioxidante ocasionada pela presença dos compostos fenólicos da fruta (Zeraik *et al.*, 2011).

Tal *et al.* (2016) em sua investigação sobre o potencial antioxidante, identificou três principais flavonóides nos extratos aquosos, a vitexina, isovitexina e isoorientina, com potencial aplicação e seus efeitos terapêuticos sobre o estresse oxidativo e a inflamação. Nos estudos realizados, identificaram um composto previamente conhecido, luteolin-8-C-b-digitoxopiranosídeo, que apresentou efeitos neuroprotetores em ensaios de células de cultura. Foi observado em culturas de células dermalfibroblásticas tratadas com extrato de semente de maracujá o scirpusina B, que por sua vez mostrou maiores atividades vasorrelaxante e antioxidante. Em mesmo estudo, realizaram extração utilizando uma solução hidroalcoólica (etanol 50%) como solvente e temperatura de 70° C, o conteúdo fenólico apresentou correlações altas e positivas com a atividade antioxidante dos extratos (Tal *et al.*, 2016).

Outro estudo identificado no levantamento realizado por Tal *et al.* (2016), isolaram e identificaram quatro novas 6-didesoxihexose-C-glicosilflavonas dos caules e da fração leaves

n-butanólica da *Passiflora edulis*, identificando outro componente, a luteolina, que aumentou o crescimento de neurito induzido por *Nerve growth factor* (NGF), em células PC12, evidenciando assim um efeito neuroprotetor.

Nas doenças neurodegenerativas, a neurodegeneração é acelerada pela disfunção mitocondrial e estresse oxidativo e que sob condições de estresse oxidativo elevado, espécies oxigênio reativo (ROS) podem induzir disfunção celular e até morte. O cérebro é geralmente suscetível a esse dano oxidativo devido à sua alta atividade metabólica em um ambiente rico em lipídios com níveis relativamente baixos de defesas antioxidantes endógenas. No entanto, certas populações neuronais podem ser particularmente vulneráveis devido a seus perfis metabólicos e neuroquímicos específicos (Ahmadi *et al.*, 2021).

O excesso do neurotransmissor dopamina pode gerar ROS citotóxicos devido ao metabolismo normal da dopamina pela monoamina oxidase (MAO) ou por meio de autooxidação. Este fenômeno foi associado à vulnerabilidade de dopaminérgicos neurônios relacionado a doença de Parkinson. Sob tais condições, o fornecimento de antioxidantes ao sistema nervoso central aumentando a ingestão de antioxidantes dietéticos pode ser benéfico (Tal *et al.*, 2016; Ahmadi *et al.*, 2021)

As duas formas de maracujá têm importante interesse pois apresentam a polpa comestível de ambos os cultivares, também contém níveis relativamente elevados de éster tiol voláteis 3-mercaptohexil acetato, 3-mercaptohexil butanoato e 3-mercaptohexil hexanoato. Esses tióis são antioxidantes potenciais, necrófagos de muitas espécies de ROS que podem interagir com resíduos de cisteína em proteínas para ajudar a mantê-los no estado reduzido. Além disso, os ésteres de etiol têm as características ideais para cruzar a barreira hematoencefálica, pois têm baixo peso molecular, pequena área de superfície, e compostos hidrofóbicos com pouca capacidade de formar ligações de hidrogênio. Alguns estudos levantados no trabalho, sugerem que além de ser uma fonte para extração industrial de pectina, os extratos de casca também apresentam benefícios antiinflamatórios e antioxidantes significativos para a saúde (Tal *et al.*, 2016).

### 3.7.1 Composição Nutricional do Maracujá

Quanto ao aspecto nutricional, o maracujá é rico em minerais e vitaminas, bem como uma fonte de alcaloides, flavonoides, carotenoides ( $\beta$ -caroteno) e alta concentração de fibras

solúveis e insolúveis (encontradas na casca). Além das variações de composição devido aos diferentes tipos do gênero da *Passiflora*, o valor nutricional dos frutos, seu conteúdo fenólico e capacidade antioxidante podem variar de acordo com os cultivares e devido a maturação e fatores edafoclimáticos (Figueiredo *et al.*, 2016; Corrêa *et al.*, 2016; Oluoch; Nyaboga; Bargul, 2018; He *et al.*, 2020).

O Maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. Flavicarpa*), possui um equivalente de 97kcal, 2,20gramas (g) de proteínas, 0,70g de lipídeos, 23,38g de carboidratos, fibras equivalente a 10,4g, 12 miligramas (mg) de cálcio, 1,6mg de ferro, 29mg de magnésio, 38mg de fósforo, 348mg de potássio, 28mg de sódio, 0,10mg de zinco, e cobre equivalente a 0,086mg. Enquanto as vitaminas compostas no maracujá amarelo, apresenta 30mg de ácido ascórbico, 0,130mg de riboflavina, 1,4mg de niacina, 14 microgramas de folato, colina com 7,6 microgramas, 64 micrograma de vitamina A e beta caroteno com 743 microgramas (Corrêa *et al.*, 2016).

Já o maracujá roxo (*Passiflora edulis Sims*) possui um equivalente de 51kcal, 0,39 g de proteínas, 0,05g de lipídeos, 13,60g de carboidratos, fibras equivalente a 0,2g, 4 mg de cálcio, 0,24mg de ferro, 17mg de magnésio, 13mg de fósforo, 278mg de potássio, 6mg de sódio, 0,05mg de zinco, e cobre equivalente a 0,053mg. Enquanto as vitaminas compostas no maracujá roxo, apresenta 29,8mg de ácido ascórbico, 0,131mg de riboflavina, 2,46mg de niacina, 7 microgramas de folato, colina com 4 microgramas, 36 micrograma de vitamina A e beta caroteno com 419 microgramas (Corrêa *et al.*, 2016).

### 3.8 Avaliação da aprendizagem e memória com o modelo animal Zebrafish (*Danio rerio*)

A ciência evoluiu e agora permite o desenvolvimento de uma variedade de modelos experimentais que tentam imitar, tanto quanto possível, os aspectos humanos desejados, usando animais e células de cultura *in vitro*. Modelos animais como *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio*, *Rattus norvegicus* ou *Caenorhabditis elegans* são comumente usados devido ao seu rápido desenvolvimento, tamanhos pequenos e alta homologia com humanos (Rojas-García *et al.*, 2023).

Zebrafish (*Danio rerio*) é um peixe tropical nativo do sul da Ásia que se tornou um modelo vertebrado em biologia do desenvolvimento, tendo sido criado por George Streisinger na década de 1970 na Universidade de Oregon. Desde então, o Zebrafish emergiu como um dos modelos animais em estudos pré-clínicos para a compreensão de

vários processos fisiológicos e doenças. O Zebrafish apresenta um alto grau de conservação na organização neuroanatômica e nas vias de sinalização de neurotransmissores com humanos. Desde então, um repertório de comportamentos comparáveis a um humano, como atividade locomotora, comportamentos semelhantes à ansiedade, aprendizagem, retenção de memória, reconhecimento espacial e de objetos, respostas de medo e preferência e interação social, foi caracterizado neste animal (Tan *et al.*, 2022).

O Zebrafish (*Danio rerio*) é um organismo modelo interessante que pode oferecer novas oportunidades na pesquisa dos efeitos benéficos dos flavonóides, graças a uma combinação de aspectos interessantes e diversas vantagens experimentais: tamanho, fácil de manter e barato de cultivar; são opticamente transparentes e adequados para monitoramento óptico e manipulação desde o momento da fertilização externa até a organogênese e alta homologia do genoma de 70% com os humanos. (Mhalhel *et al.*, 2023). Além disso, curto tempo de geração (aproximadamente 3 meses) e grande número de ovos por desova, permitindo que muitos animais sejam estudados ao mesmo tempo (Martins *et al.*, 2023).

O uso de extratos ricos em compostos bioativos, que além de exercerem notável atividade antioxidante podem interagir com cascatas de sinalização e vias moleculares na fisiologia humana, é uma potencial linha de pesquisa neuroprotetora (Rojas-García *et al.*, 2023). Dado que os flavonóides inibem os mecanismos pró-apoptóticos e aumentam a plasticidade neuronal, eles têm atraído grande interesse no combate às doenças neurodegenerativas (Mhalhel *et al.*, 2023).

Os flavonóides são um grupo de polifenóis vegetais e estão amplamente presentes em muitas plantas, incluindo frutas e vegetais comestíveis. A maioria dos flavonóides possuem atividades antioxidantes. As habilidades de eliminação de ROS dos flavonóides proporcionam-lhes efeitos benéficos, como atividades antiinflamatórias, neuroprotetoras e cardioprotetoras (Chen *et al.*, 2012).

Richetti *et al.* (2011) avaliaram o efeito da quercetina e rutina, para investigar o potencial papel protetor contra os déficits de memória induzidos pela escopolamina no modelo Zebrafish utilizando o teste de esquiva inibitória. A administração de quercetina e rutina preveniu os défices de memória induzidos pela escopolamina no Zebrafish, sugerindo que estes flavonóides podem ser uma estratégia preventiva contra o desenvolvimento da DA. Esses resultados contribuem para o aumento do conhecimento sobre a aplicabilidade de compostos vegetais como medicamentos para prevenir e tratar doenças

neurodegenerativas, como a DA.

O teste da evitação inibitória é um dos testes cognitivos mais comumente usados para avaliar as funções de aprendizagem e memória do Zebrafish. Durante a sessão de treinamento, o peixe é colocado em um tanque (dividido em dois compartimentos claro e escuro) no compartimento claro e pode passar para o compartimento escuro (Figura 5). Um choque elétrico é aplicado ao peixe quando ele entra no compartimento escuro. A sessão de treinamento pode ser repetida várias vezes até que uma resposta condicionada se desenvolva. Uma sessão de sondagem é então conduzida após 24 horas (para memória de curto prazo) da última tentativa de treinamento, de modo que o peixe possa explorar o compartimento sem o choque elétrico. A latência para entrar no compartimento escuro durante as sessões de treinamento e sondagem é registrada como uma indicação de retenção de memória (Tan *et al.*, 2022).

**Figura 5.** Tanque com dois compartimentos claro e escuro e eletrodos para aplicação do choque elétrico



**Fonte:** Autora (2023).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A interação entre alimentação e saúde cognitiva é um campo em expansão na pesquisa científica, com implicações significativas para a prevenção e o tratamento de distúrbios neurológicos. Compreender os efeitos dos alimentos na função cerebral é essencial para promover a saúde cognitiva ao longo da vida. As bebidas fermentadas e certos alimentos, como castanhas, coco e maracujá, demonstram potencial para promover a saúde cerebral devido aos seus compostos bioativos e propriedades neuroprotetoras. Incorporar esses alimentos na dieta pode ser uma estratégia eficaz para manter a função cognitiva e reduzir

o risco do declínio cognitivo. Além disso, os modelos animais, como o Zebrafish (*Danio rerio*), são ferramentas valiosas para investigar os mecanismos subjacentes aos efeitos dos alimentos na função cerebral. O uso de modelos animais permite uma compreensão mais aprofundada dos processos envolvidos na saúde cognitiva e pode fornecer insights importantes para o desenvolvimento de intervenções dietéticas para melhorar a função cerebral.



## **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 Matérias-primas utilizadas na pesquisa**

Para a produção das bebidas fermentadas elaboradas foram utilizadas as matérias-primas: castanha de caju, coco, açúcar cristal, polpa de maracujá e água comercial onde foram adquiridos no mercado local da cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. A Kombucha em pó, com certificação de segurança e ausência de microrganismos patogênicos foi adquirida do laboratório FSL Farma (Minas Gerais, Brasil) por meio do comércio online.

### **5.2 Elaboração do extrato hidrossolúvel da amêndoa da castanha de caju**

As castanhas de caju foram pré-processadas, pesadas, lavadas em água e deixadas de molho sob refrigeração durante 12 horas. Para obtenção do extrato, as castanhas de caju selecionadas e processadas na proporção 1:6 (castanha:água) em liquidificador industrial da marca Philips Walita/Brazil (Rebouças, 2012). O extrato obtido foi filtrado em malha de nylon (60 Mesh) para separar os resíduos sólidos. A metodologia foi baseada em Lima *et al.* (2017) com adaptações.

Para a obtenção do extrato hidrossolúvel do coco, o endosperma seco do coco foi lavado em água corrente e na sequência, processado em liquidificador industrial, da marca Philips Walita/Brazil, com uma proporção de água aquecida (90 °C) de 1:3 (coco:água). Posteriormente, o extrato obtido foi filtrado em malha de nylon (60 Mesh) para separar os resíduos sólidos (Rincon *et al.*, 2020).

Ambos os extratos solúveis obtidos foram adicionados de 5% de açúcar cristal, como substrato para a fermentação (Alves *et al.*, 2021).

### **5.3 Elaboração dos extratos fermentados de castanha de caju e coco**

A fermentação foi efetuada com a kombucha em pó comercial. Inicialmente a kombucha em pó foi pesada (0,05g) e diluída em água potável (100ml). A proporção utilizada tomou como base as indicações do fabricante e testes preliminares relacionados ao tempo de fermentação e o pH das amostras. Utilizou-se 5% desta preparação para proceder o processo de fermentação dos extratos de castanha de caju e coco, de acordo com as proporções descritas na Tabela 1. Os recipientes contendo cada uma das proporções dos extratos adicionados da kombucha foram cobertos com um pano de algodão esterilizado e mantidos a 37°C, em condições estáticas, por até 20 horas. A fermentação dos extratos ocorreu até atingir o pH de

4,5 ( $\pm 0,05$ ). Após o término do processo, os extratos fermentados foram resfriados e mantidos sob refrigeração (6-10°C) (Xia *et al.*, 2019).

O delineamento experimental para a preparação dos extratos fermentados foi definido de acordo com o delineamento de mistura simplex-centróide contendo 2 componentes principais da proporção para a produção dos extratos hidrossolúveis, sendo estes a castanha de caju e o coco. Os valores mínimos e máximos foram mantidos como padrão do programa, desde 0% do componente na mistura até 100% nas formulações, como descrito na Tabela 1. O software Statistica versão 13.3 forneceu o delineamento experimental de mistura simplex-centróide de cinco pontos.

**Tabela 2.** Desenho experimental da mistura simplex-centróide da composição dos extratos hidrossolúveis de castanha de caju e de coco.

Tratamentos	Castanha de caju (%)	Coco (%)
1	100	0
2	0	100
3	50	50
4	75	25
5	25	75

As escolhas dos extratos fermentados (tratamentos) mais promissoras foram pautadas nas variáveis: contagem de bactérias lácticas (BAL), pH (inicial e final), tempo de fermentação e concentração de compostos fenólicos. Os dois extratos fermentados caracterizados como mais promissores, foram utilizados como base para a elaboração da bebida fermentada.

## 5.4 Caracterização das bebidas fermentadas

### 5.4.1 Atividade antioxidante pelo método ABTS

A atividade antioxidante das bebidas foi realizada pelo método de captura do radical ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-diammonium salt) conforme Rufino *et al.* (2007). Foram utilizados volumes de 10, 20 e 30  $\mu\text{L}$  de cada extrato diluído, respectivamente, em 20, 10 e 0  $\mu\text{L}$  de água destilada pipetada em tubos de ensaio. Cada tubo foi adicionado 3,0 mL da solução de radical ABTS com absorbância entre 0,700 e 0,705 nm.

Os tubos foram agitados em vórtex e mantidos ao abrigo da luz durante toda a análise. A leitura foi efetuada em um espectrofotômetro a 734 nm após 6 minutos. O álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o equipamento. O padrão analítico Trolox foi utilizado para construir a curva padrão (100 a 2.000  $\mu\text{M}$ ) e os resultados da atividade antioxidante foram expressos em  $\mu\text{M}$  Trolox/mL de bebida.

#### **5.4.2 Determinação de minerais pelo método de espectrometria de absorção atômica e plasma**

A determinação do teor de cinzas nas amostras seguiu os protocolos descritos pela A.O.A.C. (2016). Antes da análise, as amostras foram carbonizadas por incineração em forno mufla a uma temperatura de 550 °C, conforme especificado no método 940.26. A composição mineral consistiu em utilizar as cinzas previamente obtidas do produto e adicioná-las a 3 mL de ácido clorídrico 1 M na proporção de 1: 1 (água: ácido). Posteriormente, a solução foi filtrada em um filtro de papel para um balão volumétrico de 50 mL, e em seguida o volume do balão foi completado com água destilada. Logo em seguida foram realizadas as análises para quantificação dos minerais (Ca, Mg, Zn e Fe) através do espectrômetro (Thermo ICE™3300 AAS, USA) por absorção atômica (Santos et al, 2021) e Se por Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente (Thermo Scientific iCAP 6000 Series ICP Spectrometer) (Moskwa et al, 2023).

#### **5.4.3 Simulação da digestão gastrointestinal (SGD) *in vitro* para estimativa de bioacessibilidade da atividade antioxidante e conteúdo mineral das bebidas fermentadas.**

A simulação da digestão gastrointestinal (SGD) *in vitro* foi realizada de acordo com o método descrito por Miller *et al.* (1981), no qual consiste em simular o processo digestivo das fases gástrica e intestinal. Para simular a digestão gástrica, 20 g de amostra das bebidas foram colocados em um frasco Erlenmeyer âmbar de 250 ml e o pH foi ajustado para 2,0 com HCl 2M, seguido da adição de 3,2 mL de solução de pepsina da mucosa gástrica porcina (0,16 g/mL; P7000, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). As soluções foram incubadas em banho termorregulado (Banho Dubnoff, TE-053, Technal, Brasil) a 37 °C e agitadas (130 rpm) durante 2h. Para simular a fase intestinal, a mistura digerida foi ajustada para pH 7,5 com NaOH 0,5M. As amostras foram dialisadas utilizando uma membrana celulósica tubular (com água e NaHCO<sub>3</sub> 0,5M, pH 7,5, membrana vg. Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e agitadas (130 rpm) durante 30 min a 37 °C em um banho termorregulado (Banho Dubnoff, TE-053, Technal, Brasil). Finalmente, 5 mL de solução de bile-pancreatina (0,03 g/mL) (50 mL de

NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M, 1,3 g de bÍlis bovina B8381, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA), e 0,2 g de pancreatina de pÍncreas porcino (P1625; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA), foram adicionados Às amostras e os frascos foram colocados em banho termorregulado (Banho Dubnoff, TE-053, Technal, Brasil) a 37 °C e agitaÇão (130 rpm) durante 2 h. Na sequÊncia, as amostras foram armazenadas sob congelamento para anÁlises posteriores.

As soluÇões dialisadas assim como as bebidas fermentadas elaboradas foram utilizadas para quantificar a atividade antioxidante e o conteÚdo mineral de acordo com os procedimentos descritos na seÇão 5.4.1 e 5.4.2, respectivamente.

A porcentagem bioacessÍvel foi calculada de acordo com Briones-Labarca *et al.* (2011), por meio da fÓrmula:  $\%BioacessÍvel = 100 \times (D/E)$

D = dados do conteÚdo dialisÁvel

E = dados totais da amostra

## **5.5 Ensaios *in vivo* com o modelo animal Zebrafish (*Danio rerio*) para avaliaÇão do potencial neuroprotetor e bioativo das bebidas fermentadas**

Zebrafish (*Danio rerio*) (idade de 90 a 120 dias;  $0,4 \pm 0,1$  g,  $3,5 \pm 0,5$  cm), silvestre, de ambos os sexos, foi adquirido em loja local (Fortaleza, CE). Os animais foram mantidos em um aquÁrio de vidro ( $30 \times 15 \times 20$  cm) de 10 L ( $n = 3 / L$ ), a uma temperatura de  $25 \pm 2$  °C, em ciclos claro-escuro de 24 h com Água clorada (ProtecPlus®) e bomba de ar com filtros submersos, sob uma temperatura de 25°C e pH 7,0, Ciclo circadiano de 10 - 14 h (claro/escuro). Os peixes receberam raÇão (Spirulina®) 24 h antes dos experimentos. O trabalho foi aprovado pelo ComitÊ de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do CearÁ (CEUA-UECE; nº 04983945/2021), estando de acordo com os PrincÍpios Éticos da ExperimentaÇão Animal.

### **5.5.1 Toxicidade aguda 96h**

Os animais ( $n = 6/\text{grupo}$ ) receberam por via oral, as concentraÇões de 3,75; 7,5 e 15 mg/mL de CA; M e CA+M cada grupo, separadamente. Outros 2 grupos receberam por via oral 6,25, 12,5 e 25 mg/mL de CACC e CACC+M respectivamente. Em seguida os animais foram deixados em repouso para anÁlise da taxa de mortalidade por um perÍodo de 96 h, registrando-se a cada 24 h o nÚmero de peixes mortos em cada grupo (OECD, 2019) sendo a dose letal capaz de matar 50 % dos animais (CL<sub>50</sub>) determinada pelo mÉtodo matemático probit com intervalo de confianÇa de 95%.

Durante este período, os peixes foram alimentados normalmente duas vezes ao dia com flocos comerciais (Alcon).

### **5.5.2 Campo aberto (Novel tank)**

Os peixes ( $n = 6$ , cada tratamento) receberam os mesmos tratamentos da seção anterior e cada grupo, incluindo o controle (água) após 60 min dos tratamentos, foram transferidos individualmente para um tanque retangular (20 cm de comprimento  $\times$  15 cm de altura  $\times$  12 cm de largura) com até 2,8 L e com as laterais cobertas com papel branco, exceto a parede frontal para permitir a gravação da câmera. O comportamento dos peixes foi imediatamente registrado por 5 min. O tanque foi dividido em três áreas horizontais iguais (inferior, médio e superior) de 4 cm de altura cada para investigar a atividade locomotora e o comportamento do tipo ansioso, e os seguintes parâmetros foram considerados: distância total percorrida, velocidade média em movimento, tempo total de imobilidade, tempo e distância percorrida na área superior e latência para entrar na área superior (Moreira & Luchiari, 2022).

### **5.5.3 Teste de esquiiva inibitória**

Para avaliação das amostras no teste de esquiiva inibitória, os animais receberam os mesmos tratamentos (3,75; 7,5 e 15 mg/mL de CA; M e CA+ M, respectivamente e 6,25, 12,5 e 25 mg/mL de CACC e CACC+M respectivamente). A metodologia da esquiiva foi avaliada conforme Bertoncello *et al.* (2019).

O equipamento consiste de um tanque de vidro (28 cm de comprimento  $\times$  14,7 cm de largura  $\times$  19 cm de altura) que continha 1,3 L de água não clorada. O tanque foi dividido em dois compartimentos idênticos (preto e branco), separados por uma divisória do tipo guilhotina, que podia ser operada manualmente (10  $\times$  10 cm). No compartimento preto, havia três conjuntos de barras metálicas (1 cm de diâmetro) espaçadas por 3 cm, todas conectadas a um dispositivo de eletroestimulação. O objetivo era aplicar um estímulo aversivo, para isso, os peixes foram submetidos a choques pulsados a uma frequência de 100 Hz durante 5 segundos. Cada grupo de animais ( $n = 6$  animais por grupo), que tinha sido previamente isolado individualmente em potes de 500 mL e identificados, passou por uma sessão de treinamento. Durante essa sessão, cada peixe foi colocado no compartimento branco do aparato. Após um minuto de adaptação, a porta do tipo guilhotina foi levantada, e o tempo que cada animal levou para entrar na área preta foi registrado como tempo de latência. A medida que os peixes atravessavam o compartimento

escuro, a porta era baixada, e um leve choque elétrico ( $125 \text{ mA}$ ,  $3 \pm 0,2 \text{ V}$ ) era administrado. Posteriormente, o peixe era retirado do tanque e tratado por via oral ( $n = 6$  peixes por grupo) com cada amostra. Um grupo adicional foi tratado com DZP ( $4 \text{ mg/kg}$ , v.o.), enquanto outro grupo recebeu água destilada (controle negativo). Após 24 horas, foi realizada a sessão de teste, seguindo um procedimento semelhante ao da sessão de treinamento, mas sem a administração de choque elétrico. Ao final, um segundo teste de esquiva inibitória também foi aplicado com o MK-801 junto a bebida que apresentou o melhor desempenho no teste anterior, conforme a metodologia de Franscescon et al. (2020).

## **5.6 Análise estatística**

A média e o desvio padrão foram calculados para cada parâmetro avaliado em cada bebida. Os testes estatísticos foram efetuados com o programa Statistica 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os resultados dos testes do zebrafish foram expressos como valores da média  $\pm$  erro padrão da média para cada grupo de 6 animais. Depois de confirmar a normalidade de distribuição e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram identificadas através da análise de variância two-way ANOVA, seguido do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o software GraphPad Prism v. 8.0.1. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ( $p < 0,05$ ).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Bioacessibilidade dos minerais e da atividade antioxidante das bebidas fermentadas

Os resultados do conteúdo e da bioacessibilidade das bebidas funcionais fermentadas em relação à capacidade antioxidante e aos minerais Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Zinco (Zn), Ferro (Fe) e Selênio (Se) estão apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Bioacessibilidade dos minerais e atividade antioxidante das bebidas antes e após a digestão

Parâmetro	CA+M			CACC+M		
	Antes da SGD (100ml)	Depois da SGD (100ml)	Bioacessibilidade (%)	Antes da SGD (100ml)	Depois da SGD (100ml)	Bioacessibilidade (%)
Cálcio (mg)	1,4515 ±0,10	0,5275± 0,04	36,55%	1,1170 ±0,10	0,6825± 0,03	61,10%
Magnésio (mg)	20,391 3±0,29	1,4931± 0,08	7,32%	18,069 8±0,19	1,6524± 0,10	9,10%
Zinco (mg)	0,8915 ±0,05	0,4076± 0,20	45,72%	1,904± 0,11	0,1140± 0,02	5,98%
Ferro (mg)	1,942± 0,18	0,2101± 0,02	10,82%	2,179± 0,06	0,1472± 0,01	6,75%
Selênio (mg)	0,0655 ±0,02	0,0063± 0,00	11,90%	0,0777 ±0,00	0,0078± 0,00	8,16%
Atividade antioxidante (µM trolox mL <sup>-1</sup> )	1,71±0, 16	254,52± 55,64	14884%	1,46±0, 19	330,21± 4,20	22617%

CA: Castanha de caju; CACC: Castanha de caju com coco; M: Maracujá. SGD: Simulação da digestão gastrointestinal.

Entre os cinco minerais analisados, para a bebida CA+M, antes do processo de digestão, foram encontradas maiores concentrações magnésio (20,3913 mg) e cálcio (1,4515 mg). Para CACC+M predominaram as concentrações de magnésio (18,0698 mg) e ferro (2,18mg).

Embora em quantidades menores, o selênio também esteve presente em ambas as bebidas, com concentrações de 0,0655 mg para CA e 0,0777 mg para CACC,

Os valores da bioacessibilidade de minerais para as amostras CA e CACC ficaram entre 5,98% a 61,10%, com destaque para as concentrações de zinco (45,72%) e cálcio (36,55%) para CA; e de cálcio (61,10%) e magnésio (9,10%) para CACC. Na bebida CA+M, os percentuais de bioacessibilidade foram de 10,90% para o selênio e 10,82% para o ferro. Já na amostra CACC+M esses valores foram ainda menores, correspondendo a 8,16% para o selênio e 6,75% para o ferro.

Os resultados da bioacessibilidade de zinco para a bebida CA foram superiores (45,72%) ao encontrado por Sanches *et al.* (2020) em sua pesquisa em relação à bioacessibilidade deste mineral em bebidas de soja com valores entre 18 - 21%. A absorção do zinco no organismo pode ser influenciada por diversos fatores dietéticos. A presença de fitatos, fibras e polifenóis, pode reduzir a absorção do zinco ao formar complexos insolúveis com o mineral no intestino. Por outro lado, o consumo de proteínas pode aumentar a sua absorção. Estudos indicam que compostos como as procianidinas, um polifenol presente em frutas como a uva, podem inibir a absorção de zinco ao interferir nos mecanismos de transporte do mineral nas células intestinais (Schulz *et al.*, 2017; Udechukwu *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2011).

Embora o selênio estivesse presente em baixas concentrações nas duas amostras (CA+M: 0,0655 mg/100 ml; CACC+M: 0,0777 mg/100 ml), sua bioacessibilidade foi relativamente significativa, com valores de 11,90 % e 8,16%, respectivamente. Esses valores superaram a bioacessibilidade observada para os minerais ferro e zinco na bebida CACC. No entanto, ao comparar esses resultados com os de Teixeira *et al.* (2024), que investigaram a bioacessibilidade do selênio em bebidas vegetais à base de cereais, oleaginosas e sementes de abóbora, constataram que as bebidas vegetais derivadas de nozes, como macadâmia (86%), castanha de caju (93%) e castanha do Brasil (96%), apresentaram bioacessibilidade muito superiores. Isso sugere que, apesar da presença do selênio nas amostras CA+M e CACC+M, a sua biodisponibilidade foi consideravelmente inferior em comparação com as bebidas avaliadas por esse autor.

Apesar do teor de cálcio (CA+M: 1,4515mg/100ml; CACC+M: 1,1170mg/100ml) nas bebidas serem menores comparado ao ferro, o cálcio apresentou uma bioacessibilidade significativa, principalmente na bebida CACC+M. Estudo conduzido por Tang *et al.* (2007) a fermentação do leite de soja enriquecido com cálcio e com probióticos selecionados pode



potencialmente aumentar a biodisponibilidade do cálcio devido ao aumento da sua solubilidade. Raes *et al.* (2014) enfatiza que a fermentação melhora a bioacessibilidade de minerais nos alimentos vegetais, interagindo com fatores antinutricionais como fitato, compostos fenólicos e fibras. Nesse sentido, as bebidas CA+M e CACC+M, principalmente a última, foram beneficiadas pelo processo de fermentação diminuindo os fatores que influenciam na bioacessibilidade dos minerais e aumentando a bioacessibilidade do cálcio.

A **Tabela 3** mostra que as bebidas CA+M e CACC+M contribuem de maneira significativa para a ingestão diária de cálcio e magnésio. A contribuição de ferro e zinco e pelas bebidas também é notável. Esses minerais são de extrema importância, pois desempenham papéis fundamentais em processos cognitivos (Tardy *et al.* 2020).

Os resultados da atividade antioxidante das bebidas após a simulação da digestão gastrointestinal (SGD) indicaram um aumento significativo nos seus valores. Especificamente, a bebida CACC+M apresentou percentual de bioacessibilidade com relação a atividade antioxidante (22617%) superior a bebida CA+M (14884%).

Neste estudo, os resultados da bioacessibilidade da atividade antioxidante das bebidas mostraram que houve um aumento significativo. Estes números indicam que os biocompostos de ambas as bebidas são transformados durante a digestão gastrointestinal, melhorando sua bioacessibilidade, o que é de fundamental importância quando se considera os benefícios à saúde associados. Os compostos antioxidantes liberados durante a digestão foram capazes de reduzir o radical oxidativo avaliado pelo teste ABTS, aumentando a ação antioxidante no intestino, onde são absorvidos. Este aumento pode ser atribuído à melhoria na bioacessibilidade dos compostos antioxidantes durante a digestão gastrointestinal simulada, conforme descrito por Bisinotto *et al.* (2021) ao avaliar a farinha de castanha de caju desengordurada. Este estudo demonstrou que a simulação da digestão gastrointestinal pode aumentar a capacidade antioxidante dos produtos alimentares, o que é consistente com os resultados observados nas bebidas estudadas neste trabalho. Resultados similares foram observados por Cuvás-Limon *et al.* (2022) ao avaliar a bioacessibilidade de bebidas fermentadas de Aloe vera, constatando efeito positivo da fermentação na bioacessibilidade desta bebida, assim como seu aumento durante o processo de digestão.

Nagarajan *et al.* (2020) relataram que alguns compostos fenólicos (CF) exercem propriedades antioxidantes e durante o processo de digestão, essas transformações podem contribuir no aumento da atividade antioxidante. Da mesma forma, o estudo de Barros *et al.*

(2020) revelou que a digestão simulada *in vitro* e a fermentação probiótica aumentaram a bioacessibilidade de compostos antioxidantes em resíduos de frutas. Especificamente, o resíduo de graviola apresentou uma maior bioacessibilidade devido à fermentação probiótica. Esse processo facilita a clivagem/dissociação das ligações entre compostos fenólicos e outros constituintes. Este processo libera compostos fenólicos monômeros, assim aumentando a capacidade antioxidante (Barros *et al.*, 2020).

O ambiente de digestão pode contribuir para a liberação de compostos antioxidantes que se ligam a outros componentes da matriz. Essas interações entre compostos antioxidantes e constituintes dietéticos (minerais e oligossacarídeos) podem levar a formações complexas e, conseqüentemente, causar alterações na estrutura química, peso molecular e solubilidade dos antioxidantes, resultando na diminuição ou aumento da bioacessibilidade de substâncias fenólicas/antioxidantes (Barros *et al.* 2020).

## 6.2 Teste *in vivo* com o modelo animal Zebrafish (*Danio rerio*)

### 6.2.1 Toxicidade aguda 96h

O efeito da toxicidade no Zebrafish adulto foi observado após tratamento oral dos animais com as bebidas fermentadas nas concentrações de 3,75; 7,5 e 15 mg/mL de CA; M e CA+ M, respectivamente e 6,25, 12,5 e 25 mg/mL de CA+CC e CA+CC+M, respectivamente. Os resultados da toxicidade aguda em 96h estão apresentados na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Resultados dos testes de toxicidade aguda (96h)

Amostras	Mortalidade				DL50(mg/mL)/IV
	CN	D1	D2	D3	
CA	0	0	0	0	>15mg
M	0	0	0	0	>15mg
CA+ M	0	0	0	0	>15mg
CACC	0	0	0	0	>25mg
CACC+M	0	0	0	0	>25mg
Controle	0	0	0	0	-

CA: Castanha de caju; CACC: Castanha de caju e coco; M: Maracujá. CN- Grupo controle negativo: DMSO 3%. D1 – Dose 1 (3,65 ou 6,25 mg/mL). D2 – Dose 2 (7,25 ou 12,5 mg/mL). D3 – Dose 3 (15 ou 25mg/mL). DL50- Dose Letal para matar 50% dos Zebrafish adulto; IV – intervalo de confiança.

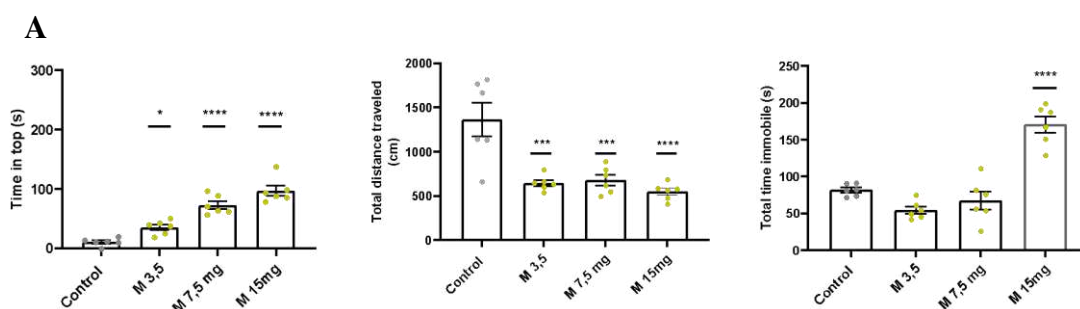
Fonte: Elaborada pelo Autor

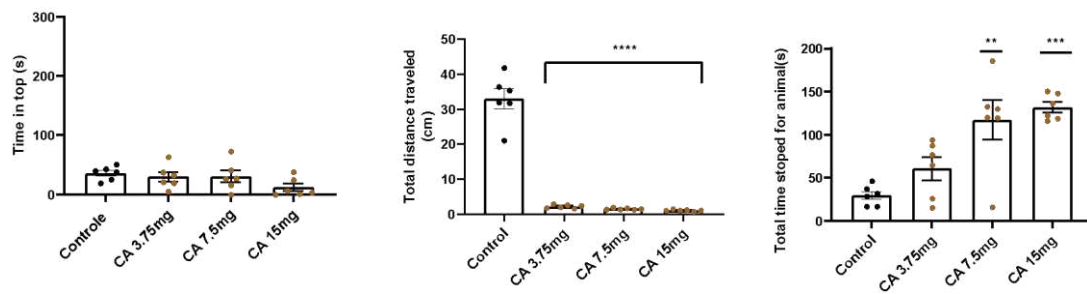
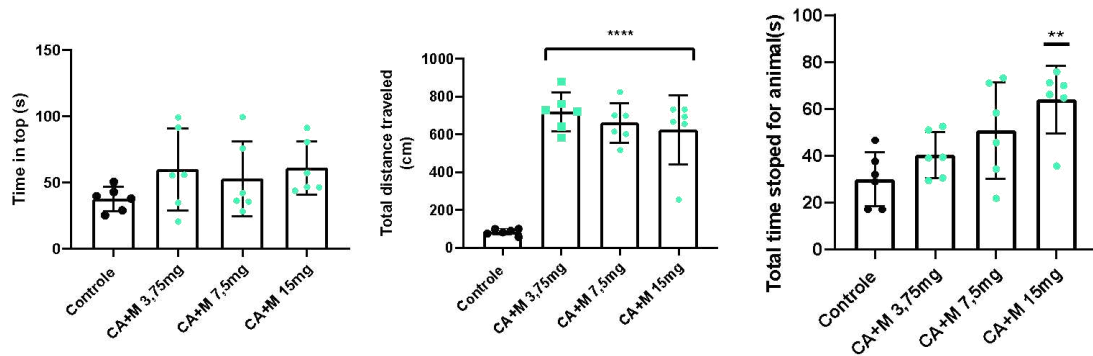
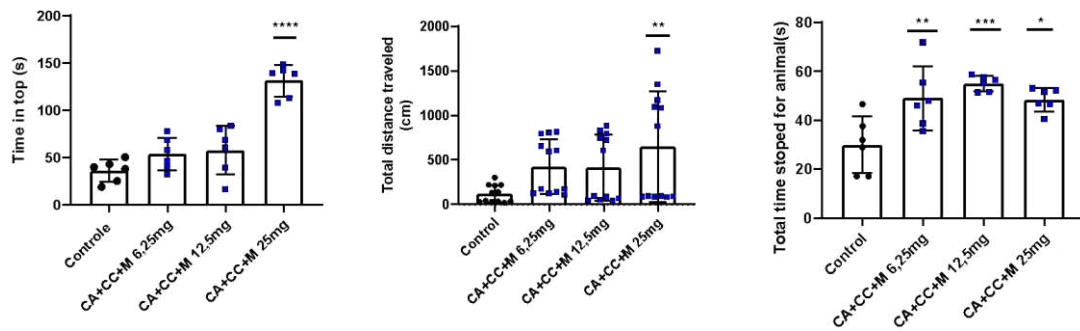
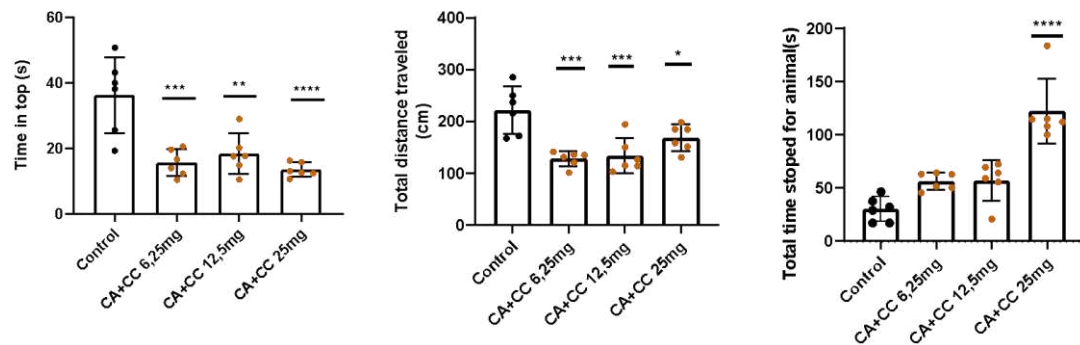
Os resultados da toxicidade apresentados na **Tabela 4** indicaram que não houve mortes de animais durante as 96 h de análise em nenhuma das amostras estudadas, confirmando a segurança pré-clínica dos compostos no uso dos experimentos com Zebrafish adulto. O zebrafish é um modelo eficaz para estudos de toxicologia alimentar devido ao seu curto ciclo de vida, capacidade reprodutiva, fácil criação e baixo custo, bem como à sua capacidade de servir como biossensores (Hou *et al.*, 2023). Em nosso estudo não houve toxicidade em nenhuma das concentrações das bebidas avaliadas confirmando que são seguras para o consumo humano, ao contrário do estudo de Ho *et al.* (2021) ao produzir um vinagre de graviola por fermentação acética e avaliar quanto a sua toxicidade, os embriões de zebrafish sobreviveram em concentrações de vinagre de graviola  $\leq 6,25\%$  com alto valor de CL50, porém em outras concentrações maiores diminuíram os números de embriões após 48 horas.

### 6.2.2 Atividade Locomotora (Novel Tank)

O One-Way ANOVA mostrou significância estatística para o tempo no topo, distância total percorrida e tempo de imobilidade (Figura 6). Especificamente, foi observado diferença estatística em pelo menos uma concentração de (M; CACC e CACC+ M) nos 3 parâmetros observados. Dentre eles, uma diferença estatística entre o aumento do tempo dos animais no topo do aquário (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ ), redução da distância percorrida (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.0001$  \*\*\*\* $p < 0.0001$ ) ao mesmo tempo em que observou um aumento na imobilização dos animais (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.0001$  \*\*\*\* $p < 0.0001$ ).

**Figura 6.** Efeito da M, CA, CA+M, CACC+ M, CACC na atividade locomotora do Zebrafish e comportamento do tipo ansioso no teste Novel Tank durante 5 min. (n= 6 peixes/grupo).



**B****C****D****E**

Parâmetros avaliados: Tempo no topo (s), distância total percorrida (cm), Tempo total imóvel do animal (s). Os dados são expressos como média  $\pm$  S.E.M. Cada círculo indica indivíduos usados em cada tratamento e o asterisco acima das barras indica significância em comparação com o grupo controle – água destilada (\* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\*\* $p \leq 0,0001$ ).

0,01; \*\*\* $p \leq 0,001$ ; \*\*\*\* $p \leq 0,001$ ). M: Maracujá; CA:Castanha de Caju; CACC: Castanha de Caju e Coco.

O teste de novel tank foi usado neste estudo para avaliar padrões de ansiedade e atividade locomotora de Zebrafish adulto tratados com diferentes concentrações de CA, M, CA+M, CACC e CACC+ M. Apesar da quantificação de respostas comportamentais seja uma ferramenta útil no zebrafish, há vários desafios, as respostas comportamentais representam apenas um dos múltiplos níveis e dimensões das respostas biológicas (Yoshida, 2022). Em Zebrafish adulto os sinais de aumento da duração do congelamento (imobilidade) e/ou redução da atividade geral medida como velocidade mais lenta ou menor distância percorrida, caracterizam-se como ansiedade estimulada pelo novo ambiente (Pannia *et al.*, 2014; Tran; Faccioli; Gerlai, 2016). Nesta perspectiva, a análise do comportamento locomotor permite avaliar o impacto de substâncias em funções neurofisiológicas, como ansiedade, estresse, e respostas motoras. As alterações na atividade locomotora podem indicar efeitos neurotóxicos ou neuroprotetores de substâncias, sendo uma ferramenta fundamental para a compreensão dos mecanismos de ação de compostos que afetam o sistema nervoso (Galstyan *et al.*, 2022).

Neste teste, a resposta inicial de um zebrafish adulto é permanecer no fundo do aquário até se aclimatar ao novo ambiente. Quanto mais tempo um peixe passa no fundo do tanque indica altos níveis de ansiedade, o que é uma manifestação comum em modelos de doenças neurodegenerativas (Shenoy *et al.*, 2022). Em nosso estudo, os efeitos dos componentes encontrados nas bebidas fermentadas podem proporcionar um comportamento ansiolítico no zebrafish. A redução da atividade locomotora dos animais após a administração de bebidas fermentadas sugere também atividade probiótica (Filho *et al.*, 2022).

Os resultados indicaram que o maracujá produziu um efeito ansiolítico significativo ( $p < 0.0001$ ) nos peixes observados pelo aumento do tempo dos animais no topo do aquário (Figura 6A). O maracujá possui alta capacidade antioxidante devido às suas altas concentrações de criptoxantina,  $\beta$ -caroteno, provitamina A, quercetina e kaempferol, além desses possui também crisina, vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, apigenina e alcalóides indólicos (Reis *et al.*, 2018; Blecharz-Klin *et al.*, 2024). A maioria dos estudos mostra que as substâncias neuroativas promissoras são os flavonoides (Blecharz-Klin *et al.*, 2024). Esses compostos são eficazes na neutralização de radicais livres, reduzindo o estresse oxidativo, que é um fator crítico no desenvolvimento de várias doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (Dhawan; Dhawan; Sharma, 2004).

Estudos demonstram que os extratos de maracujá possuem a capacidade de inibir a

oxidação de lipídios e proteger as células contra danos oxidativos, isso significa que a atividade antioxidante do maracujá também contribui para suas propriedades neuroprotetoras, que podem auxiliar na preservação das funções cognitivas e na prevenção de distúrbios neurodegenerativos (Sidorova *et al.*, 2022; Rotta *et al.*, 2020).

As hipóteses predominantes sugerem que os componentes ativos vegetais modulam a via GABAérgica e dos sistemas opioides. Os alcaloides indólicos têm estrutura semelhante aos benzodiazepínicos (drogas ansiolíticas) e, assim como eles, possuem anel de benzeno. Esses compostos podem ser responsáveis pela ação central do maracujá devido à alta afinidade ao sítio benzodiazepínico do receptor GABA tipo A (Blecharz-Klin *et al.*, 2024).

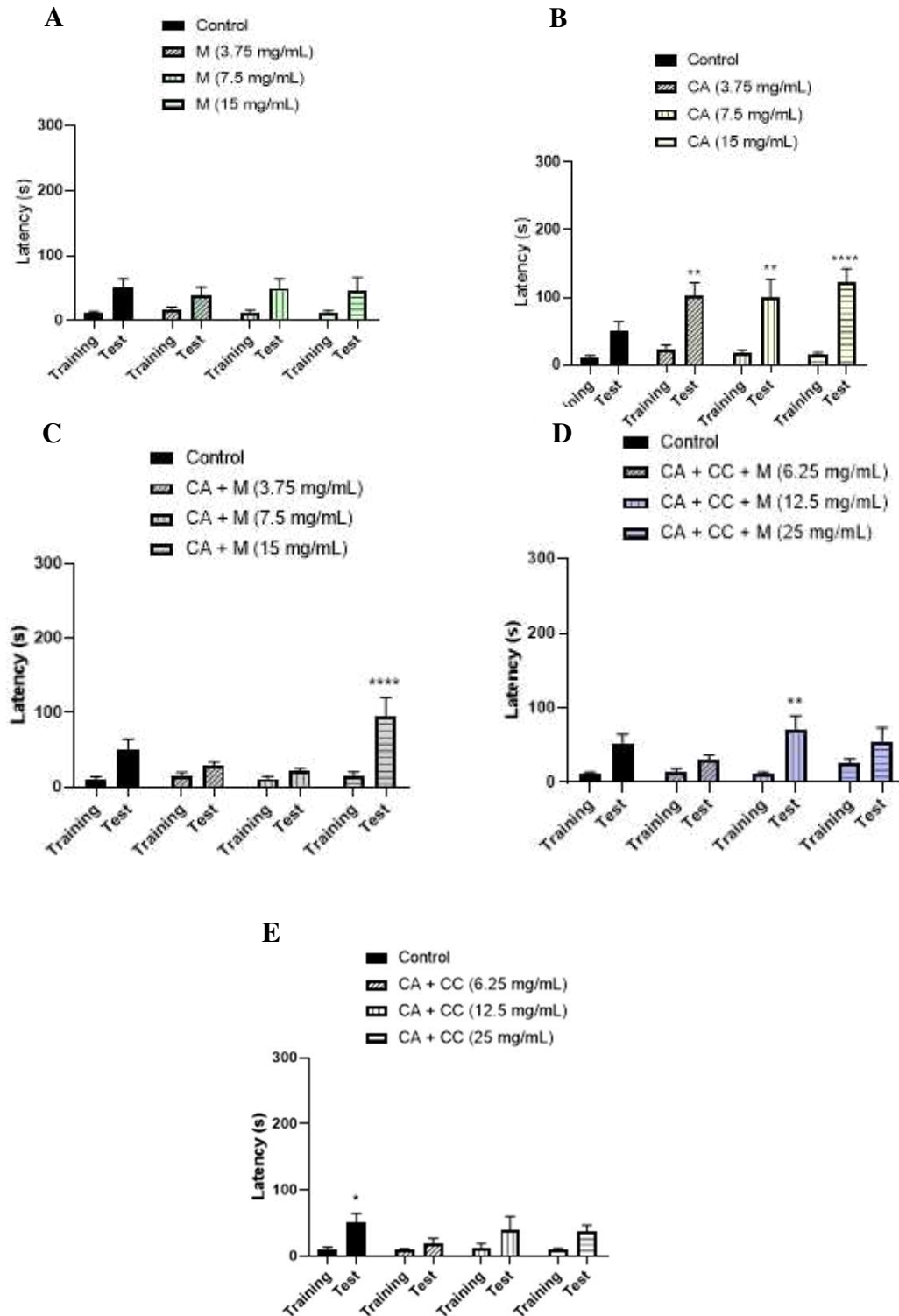
A administração da CA+M nas dosagens de 15mg/kg e 7,5mg/kg induziu um efeito ansiolítico significativo nos peixes, evidenciado pelo aumento do tempo imóvel no teste de campo aberto. O mesmo foi encontrado no estudo realizado por Filho *et al.* (2022), que analisaram como a fermentação de bebidas de castanha de caju com kefir e kombucha afeta sua dinâmica. Foi observado que a amostra fermentada com kombucha (24, 48 e 72 horas de fermentação) resultou na redução da atividade de natação dos animais, semelhante ao efeito do ansiolítico Diazepam. Dias *et al.* (2023) demonstraram em seu estudo que ratos dislipidêmicos ao receberem uma emulsão rica em gordura saturada, apresentaram um comportamento do tipo ansiogênico, que foi revertido quando os ratos consumiram farinha de castanha de caju, fonte de ácidos graxos insaturados e compostos antioxidantes.

Os extratos de castanha de caju apresentam um perfil químico diversificado, com destaque para flavonoides, alcaloides e ácidos fenólicos como ácido p-cumárico, ácido gálico e ácido elágico (Aslam *et al.*, 2024). Dentre esses, o ácido elágico destaca-se por sua comprovada atividade ansiolítica em modelos animais como em camundongos, possivelmente pela interação com os sistemas neurotransmissores adrenérgico e serotoninérgico (Neto *et al.*, 2021).

### 6.2.3 Teste de esQUIVA inibitória

A esQUIVA inibitória causado por eletrochoque indicou que a CA (3,75;7,5 e 15 mg/mL) assim como a concentração de 12,5 mg/mL da CACC+ M reverteram a memória (\*\*p < 0,01; \*\*\*\*p < 0,0001 vs Training) dos Zebrafish na sessão teste, diferentemente dos grupos tratados com controle (água) que tiveram a retenção de memória prejudicado, pois as latências para entrar no compartimento escuro entre a sessão treinamento e teste não diferiram (**Figura 7**).

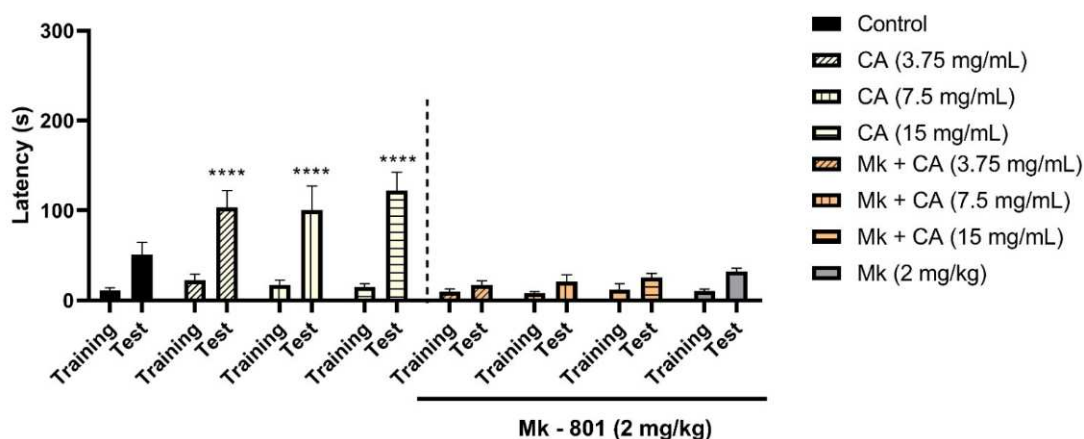
**Figura 7.** Efeito de M, CA, CA+M, CACC+ M, CACC na memória do Zebrafish adulto no Teste de Esquiva Inibitória (0-5 min).



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey. (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$  \*\*\* $p < 0,001$  vs. Treino). M: Maracujá; CA: Castanha de caju; CACC: Castanha de caju e coco.

Após avaliar cada componente isolado, e observar que todas as concentrações da CA preveniram a memória do zebrafish, foi observado que o MK-801, avaliado nas mesmas concentrações da CA (3,75; 7,5 E 15mg/mL), inibiu o efeito preventivo da CA, observados na **Figura 7B**.

**Figura 8.** Efeito da CA, MK +CA e Mk no índice de retenção de memória do Zebrafish adulto no Teste de Esquiva Inibitória (0-5 min).



Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média para 6 animais/grupo; One-Way ANOVA seguida do teste de Tukey.

Na sessão teste, nenhuma concentração dos tratamentos MK+CA preveniram a memória do modelo animal. O MK-801 bloqueou ou antagonizou o efeito de cada concentração da bebida CA na prevenção da memória (**Figura 8**).

O teste de evitação inibitória é um dos testes cognitivos mais comumente usados para avaliar as funções de aprendizagem e memória do zebrafish para avaliação das doenças neurodegenerativas associadas ao déficit cognitivo (Tan *et al.* 2022; Saleem & Kannan, 2018).

Neste estudo, mostramos pela primeira vez os efeitos neuroprotetores dos componentes M, CA, CA+M, CACC e CACC+ M presentes em uma bebida fermentada com relação a aprendizagem e memória. Os resultados mostraram que o MK-801 bloqueou ou antagonizou o efeito de cada concentração da bebida CA na prevenção da memória, sugerindo que os efeitos da bebida podem estar atuando por meio dos receptores NMDA. Ele age ativando receptores ionotrópicos conhecidos como receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, e estes atuam como impulsionadores centrais da plasticidade sináptica no sistema nervoso central (Stroebe *et al.* 2020). Os receptores ionotrópicos de glutamato



medeiam a neurotransmissão excitatória crucial para o desenvolvimento e função do cérebro, incluindo aprendizagem e formação de memória (Karakas *et al.* 2015).

Apesar do resultado obtido ter sido bloqueado/antagonizado pelo MK-801, a bebida investigada em nossa pesquisa também apresentou bons resultados na prevenção de déficits de memória como observados na bebida CA (Figura 8). Alguns estudos que avaliam a prevenção de déficits de memória utilizaram o componente isolado, como no caso da curcumina, quercetina e rutina. Coradini *et al.* (2021) demonstrou que a administração de 50 mg/kg de curcumina não encapsulada e nanoencapsulada foi eficaz na prevenção de déficits de memória induzidos por escopolamina no modelo de Zebrafish. De forma semelhante, Richetti *et al.* (2011) apresentaram resultados positivos utilizando a quercetina e rutina, onde a administração por injeção intraperitoneal de 50 mg/kg de quercetina ou rutina, 1 hora antes do tratamento com escopolamina, evitou déficits de memória induzidos pela escopolamina. Esses achados corroboram a eficácia de compostos bioativos que também são encontrados nas bebidas fermentadas na melhoria da função cognitiva, sugerindo que a nossa bebida também tem potencial neuroprotetor.

Os polifenóis de origem vegetal são reconhecidos por seus potenciais efeitos neuroprotetores na doença de Alzheimer, devido às suas marcantes propriedades antioxidantes (Cassidy *et al.*, 2020). Esses antioxidantes, especialmente aqueles derivados de fontes naturais, desempenham um papel crucial no retardo do início e na diminuição da progressão da doença de Alzheimer, quando combinados a uma dieta rica em nutrientes (Pritam *et al.*, 2022). A ingestão elevada de antioxidantes está associada a uma redução no risco de demência e doença de Alzheimer (Zhao *et al.*, 2023). Terapias antioxidantes mostram-se promissoras na redução do estresse oxidativo e no desenvolvimento de tratamentos para doenças neurodegenerativas, indicando potencial para abordagens futuras (Feng & Wang, 2012). Antioxidantes naturais emergem como agentes preventivos e terapêuticos promissores para a doença de Alzheimer, contribuindo para a redução do estresse oxidativo e para a promoção da neuroproteção (Collins *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo gerado pelos radicais livres tem sido identificado como um fator importante no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (Frota *et al.*, 2022) e uma vez que se pensa que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na doença de Alzheimer, os antioxidantes podem constituir uma terapia útil para esta doença (Veurink; Perry; Singh, 2020).

O uso de polifenóis dietéticos foi proposto como uma estratégia nova, segura e eficaz para a prevenção e melhoria dos sintomas de doenças neurodegenerativas (Coradini *et al.*, 2021). Estes fitoquímicos destacam-se pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Júnior; Pimenta; Oliveira, 2020).

Os resultados do presente estudo mostraram a relação dos componentes encontrados nas bebidas, exibem atividade antioxidante que influencia positivamente na função cognitiva e consolidação da memória do modelo animal zebrafish. Além disso, observou-se que a bioacessibilidade da capacidade antioxidante da bebida foi significativamente elevada. Outro aspecto importante a mencionar é que o processo da fermentação também pode contribuir no comportamento do zebrafish, conforme evidenciado pela avaliação da sua atividade locomotora (Figura 6)

Os estudos que correlacionam a avaliação cognitiva em bebidas fermentadas à base de castanha de caju com coco e maracujá são escassos. No entanto, resultados semelhantes foram encontrados por Wu *et al.* (2021) destacando em seu estudo que o leite fermentado funcional rico em resveratrol e selênio pode melhorar a disfunção cognitiva em camundongos. Esses achados sugerem o potencial das bebidas fermentadas para o tratamento de doenças relacionadas à idade.

Os efeitos da dieta rica em flavonoides na função cognitiva têm sido associados à sua capacidade de interagir com a estrutura celular e molecular envolvida na aprendizagem e na memória, incluindo potencialização sináptica e plasticidade. Os flavonoides também têm habilidades antioxidantes conhecidas, protegendo efetivamente os neurônios contra neurotoxinas, suprimindo a neuroinflamação e melhorando a função neuronal, estimulando a regeneração e revascularização neuronal (Richetti *et al.*, 2011).

## **7 CONCLUSÃO**

As bebidas apresentaram resultados satisfatórios em termos de bioacessibilidade do conteúdo mineral e excelente na atividade antioxidante, indicando seu potencial como um alimento funcional neuroprotetor. O componente das bebidas CA, apresentou ótimos resultados referente às propriedades neuroprotetoras avaliadas na esQUIVA inibitória. Embora o componente CA tenha prevenido a memória no teste da esQUIVA inibitória, ela não foi capaz de prevenir a perda de memória induzida pelo MK-801 no modelo de Zebrafish.

Os resultados obtidos com Zebrafish podem não ser diretamente aplicáveis a humanos

devido às diferenças biológicas entre as espécies. Estudos adicionais em modelos mamíferos e ensaios clínicos em humanos são necessários para validar os achados. Embora a pesquisa tenha focado em minerais e atividade antioxidante, outros compostos bioativos presentes nas bebidas podem também contribuir para seus efeitos neuroprotetores e não foram explorados neste estudo.

## **8 SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS**

As bebidas a base de castanha de caju e coco, combinadas com maracujá e fermentadas com a kombucha, podem ser exploradas para promover a saúde cognitiva e fornecer antioxidantes e minerais essenciais. Com isso é importante conduzir estudos de longo prazo para avaliar os efeitos contínuos do consumo dessas bebidas na saúde cognitiva, incluindo possíveis efeitos adversos. Também é importante explorar o uso das bebidas fermentadas como parte de intervenções terapêuticas para prevenir ou retardar o declínio cognitivo em populações em risco, como idosos ou indivíduos com predisposição genética para doenças neurodegenerativas. Investigar a possibilidade de fortificar as bebidas com outros nutrientes ou compostos neuroprotetores para aumentar ainda mais sua eficácia. Realizar estudos aprofundados sobre os mecanismos moleculares e celulares pelos quais os componentes das bebidas fermentadas exercem seus efeitos neuroprotetores e antioxidantes. Além disso, realizar teste de análise sensorial a fim de verificar a sua aceitação pelos consumidores. E utilizar os dados de pesquisa para desenvolver e comercializar bebidas funcionais fermentadas como opções saudáveis e terapêuticas no mercado de alimentos e bebidas.

## REFERÊNCIAS

- ABADL, M.M.T. *et al.* Biological activities and physiochemical properties of low-fat and high-fat coconut-based kefir. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v. 30, 2022.
- ACHORIBO, E.; ONG, M.T. Tiger nut (*Cyperus esculentus*): source of natural anticancer drug? Brief review of existing literature. **Euromediterranean Biomedical Journal**, [s. l.], n. 12, p. 91-94, 2017.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis: method nº 940. 26**. 20th ed. Rockville: 2016.
- AHMADI, A. *et al.* Single-cell transcriptional changes in neurodegenerative diseases. **Neuroscience**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 192-205, 2021.
- ALVES, V. *et al.* Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition. **LWT**, [s. l.], v.145, 2021.
- AKOMOLAFE, S.F.; ASOWATA-AYODELE, A.M. Roasted cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut-enhanced diet forestalls cisplatin-initiated brain harm in rats. **Heliyon**, [s. l.], v. 8, n. 10, 2022.
- ANNUNZIATA, G. *et al.* Fermentation of foods and beverages as a tool for increasing availability of bioactive compounds. Focus on short-chain fatty acids. **Foods**, [s. l.], v.9, n.8, 2020.
- ARMSTRONG, R. What causes neurodegenerative disease?. **Folia neuropathologica**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 93-112, 2020.
- ASLAM, N. *et al.* Exploring the potential of cashew waste for food and health applications- A review. **Future Foods**, [s. l.], v.9, 2024.
- AYDAR, E.F.; TUTUNCU, S.; OZCELIK, B. Plant-based milk substitutes: bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v.70, 2020.
- AYUB, M.; CASTRO-ALBA, V.; LAZARTE, C.E. Development of an instant-mix probiotic beverage based on fermented quinoa with reduced phytate content. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 87, 2021.
- AZUBUIKE-OSU, S. *et al.* Virgin coconut oil resists arsenic-induced cerebral neurotoxicity and cholesterol imbalance via suppression of oxidative stress, adenosine deaminase and acetylcholinesterase activities in rats. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 16, n. 6, p.1-8, 2021.
- BARBOSA, C.D *et al.* Microbial–physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation. **LWT**, [s. l.], v. 148, 2021.

BARROS, R. *et al.* In vitro gastrointestinal digestion and probiotics fermentation impact on bioaccessibility of phenolics compounds and antioxidant capacity of some native and exotic fruit residues with potential antidiabetic effects. **Food Research International**, [s. l.], v.136, 2020.

BEGDACHE, L.; MARHABA, R. Bioactive compounds for customized brain health: what are we and where should we be heading?. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 20, n.15, 2023.

BEHERA, S.S.; PANDA, S.K. Ethnic and industrial probiotic foods and beverages: efficacy and acceptance. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 32, p.29-36, 2020.

BELLIS, P.; SISTO, A.; LAVERMICOCCA, P. Probiotic bacteria and plant-based matrices: an association with improved health-promoting features. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 87, 2021.

BERTONCELLO, K.T. **Taurina previne déficit na consolidação da memória em um novo modelo de blackout induzido por etanol em zebrafish**. 2019. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019.

BISINOTTO, M. *et al.* Bioaccessibility of cashew nut kernel flour compounds released after simulated in vitro human gastrointestinal digestion. **Food Research International**, [s. l.], v.139, 2021.

BLECHARZ-KLIN, K. *et al.* Effect of *Passiflora incarnata* L. extract on exploratory behaviour and neurotransmitters level in the structures involved in motor functions in rats. **Journal of Pre-Clinical and Clinical Research**, [s. l.], v.18, n.1, p.1–10, 2024.

BONETTI, F.; BROMBO, G.; ZULIANI, G. Nootropics, Functional Foods, and Dietary Patterns for Prevention of Cognitive Decline. In: WATSON, Ronald Ross. **Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging**, London: Editora Elsevier, p. 211-232, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº 2, de 6 de fevereiro de 2017. Regulamento Técnico da Amêndoa da Castanha de Caju. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 de fevereiro de 2017.

BRIONES-LABARCA, V. *et al.* Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. **Food Chemistry**, [s. l.], v.128, n.2, p.520-529, 2011.

BRUNO, L.M. *et al.* Non-dairy cashew nut milk as a matrix to deliver probiotic bacteria. **Food Science and Technology**, [s. l.], v. 40, n.3, p. 604-607, 2020.

CÂMARA, C.R.S. **Indicadores de qualidade de amêndoas de castanha de caju em pedaços durante o processo industrial**. 2010. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós- Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

CARVALHO, I.M.M. *et al.* O consumo de castanhas pode reduzir o risco de processos inflamatórios e doenças crônicas. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1977-1997,

2012.

CASSIDY, L. *et al.* Oxidative stress in alzheimer's disease: A review on emergent natural polyphenolic therapeutics. **Complementary Therapies in Medicine**, [s. l.], v.49, 2020.

CHALUPA-KREBZDAK, S.; LONG, C. J.; BOHRER, B. M. Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives. **International Dairy Journal**, [s. l.], v. 87, p. 84–92, 2018.

CHANG, S.K. *et al.* Nuts and their co-products: The impact of processing (roasting) on phenolics, bioavailability, and health benefits. A comprehensive review. **Jornal Of Functional Foods**, [s. l.], v. 26, p. 88-122, 2016.

CHEN, Y.H. *et al.* Evaluation of the structure–activity relationship of flavonoids as antioxidants and toxicants of zebrafish larvae. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 134, n.2, p.717–724, 2012.

CHEN, Y. *et al.* The role of fat content in coconut milk: Stability and digestive properties. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 446, 2024.

COELHO, R.M.D. *et al.* Kombucha: Review. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v.22, p.1-20, 2020.

COLLINS, A.E. SALEH, T.M.; KALISCH, B.E. Naturally occurring antioxidant therapy in alzheimer's disease. **Antioxidants**, [s. l.], v.11, n.2, 2022.

CORADINI, K. *et al.* Free and nanoencapsulated curcumin prevents scopolamine-induced cognitive impairment in adult zebrafish. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v.66, 2021.

CORRÊA, R.C.G. *et al.* The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of passiflora spp. (passion fruit). **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 58, p.79-95, 2016.

COTON, M. *et al.* Unraveling microbial ecology of industrial-scale kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 93, n.5, 2017.

CUVAS-LIMON, R.B. *et al.* Effect of gastrointestinal digestion on the bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity of fermented aloe vera juices. **Antioxidants**, [s. l.], v.11, n.12, 2022.

DE, B. *et al.* Physicochemical and nutritional assessment of soy milk and soymilk products and comparative evaluation of their effects on blood gluco-lipid profile. **Applied Food Research**, [s. l.], v.2, n.2, 2022.

DE LA FUENTE, B. *et al.* Evaluation of fermentation assisted by *Lactobacillus brevis* POM, and *Lactobacillus plantarum* (TR-7, TR-71, TR-14) on antioxidant compounds and organic acids of an orange juice-milk based beverage. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 343, 2020.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. coconut (*Cocos nucifera* L.: *arecaceae*): in health

promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v.4, n.3, p.241-247, 2011.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. Passiflora: a review update. **Journal of Ethnopharmacol.** [s. l.], v.94, n.1, p.1-23, 2004.

DIAS, C.C.Q. *et al.* Consumption of cashew nut induced anxiolytic-like behavior in dyslipidemic rats consuming a high fat diet. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v.453, 2023.

DOUNGUE, H. T., KENGNE, A. P. N., KUATE, D. Neuroprotective effect and antioxidant activity of Passiflora edulis fruit flavonoid fraction, aqueous extract, and juice in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. **Nutrire**, [s. l.], v. 43, n. 23, p.1-12, 2018.

FENG, Y.; WANG, X. Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. [s. l.], 2012, 2012.

FIGUEIREDO, D.A.F. *et al.* Effects of bark flour of passiflora edulis on food intake, body weight and behavioral response of rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 595-600, 2016.

FILHO, A.A.L.A. *et al.* Kombucha and kefir fermentation dynamics on cashew nut beverage (Anacardium occidentale L.). **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v.33, 2023.

FRANSCESCON, F. *et al.* Neuroprotective role of taurine on MK-801-induced memory impairment and hyperlocomotion in zebrafish. **Neurochemistry International**, [s. l.], v.135, 2020.

FREITAS, J.B. *et al.* Edible seeds and nuts grown in brazil as sources of protein for human nutrition. **Food And Nutrition Sciences**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 857-862, 2012.

FROTA, L.S. *et al.* In vitro antioxidant and anticholinesterase activities of ouratea fieldingiana (gardner) eng. leaf extract and correlation with its phenolics profile with an in silico study in relation to alzheimer's disease. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v.33, n.5, p.446-455, 2022.

FRUCTUOSO, I. *et al.* An overview on nutritional aspects of plant-based beverages used as substitutes for cow's milk. **Nutrients**, [s. l.], v.13, n.8, 2021.

GALSTYAN, D.S. *et al.* Assessment of general locomotor activity and anxiety in zebrafish (Danio rerio) in the light-dark box (tank), the shoaling test, in the novel tank and the open field tests. **Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy**, [s. l.], v.20, n.2, p. 123-133, 2022.

GAO, L. *et al.* Cloning and functional expression of a cDNA encoding stearyl-ACP  $\Delta 9$ -desaturase from the endosperm of coconut (Cocos nucifera L.). **Gene**, [s. l.], v. 549, p.70-76, 2014.

GAZZOLA, J. *et al.* **Castanha de caju e sua amêndoa**: composição e importância dos ácidos graxos - produção e comércio mundiais. In: SOARES, N. S.; MERELLES, A. E. de F. (Org.).

Comércio internacional de produtos agrícolas da região Nordeste do Brasil. Fortaleza: Edições BNB, 2018. Cap. 2. p. 69-97.

GEVÁSIO, D.K.L. **Utilização do resíduo do coco verde para a produção de enzimas por fermentação em estado sólido**. 2017. 59 f. Monografia (Bacharelado Em Biotecnologia) – Universidade Federal Da Paraíba, João Pessoa, 2017.

HE, X. *et al.* Passiflora edulis: an insight into current researches on phytochemistry and pharmacology. **Frontiers in pharmacology**, [s. l.], v.11, 2020.

HO, C.W. *et al.* Functional beverage production using acetous fermentation of soursop: Physicochemical, toxicity and organoleptic properties, **Food Bioscience**, [s. l.], v.39, 2021.

HOU, Y. *et al.* Zebrafish as model organisms for toxicological evaluations in the field of food science. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v.22, n.5, p.3481-3505, 2023.

IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021.

IDOWU-ADEBAYO, F.; FOGLIANO, V.; LINNEMANN, A. Turmeric-fortified cow and soya milk: golden milk as a street food to support consumer health. **Foods**, [s. l.], v. 11, n.4, 2022.

IGNACIO, I.; MIGUEL, T. Research opportunities on the coconut (cocos nucifera l.) Using new technologies. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v.141, p.414-420, 2021.

JANZANTTI, N.S.; MONTEIRO, M. Changes in the aroma of organic passion fruit (passiflora edulis sims f. Flavicarpa deg.) During ripeness. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 59, n.2, p.612-620, 2014.

JÚNIOR, G.P.B.; PIMENTA, R.M.C.; OLIVEIRA, W.N.F. Estresse oxidativo e neuroinflamação em doenças neurodegenerativas: possível efeito neuroprotetor da agatisflavona. **Research, Society and Development**, [s. l.], v.9, n.12, 2020.

JÚNIOR, J.C.S. *et al.* Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 44, 2021.

KARAKAS, E.; REGAN, M.C.; FURUKAWA, H. Emerging structural insights into the function of ionotropic glutamate receptors. **Trends in Biochemical Sciences**, [s. l.], v.40, n.6, p.328-337, 2015.

KAUR, P.; GHOSHAL, G.; BANERJEE, U.C. Traditional bio-preservation in beverages: fermented beverages. In: GRUMEZESCU, Alexandru Mihai ; HOLBAN, Alina Maria. **Preservatives and Preservation Approaches in Beverages**, Amsterdam: Editora Elsevier, p. 69-113, 2019.

KIM, E.; PAI, T.; HAN, O. Effect of bioactive dietary polyphenols on zinc transport across the intestinal Caco-2 cell monolayers. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s. l.], v.59, n.8, p.1-16, 2011.



KIM, J.; ADHIKARI, K. Current trends in kombucha: marketing perspectives and the need for improved sensory research. **Beverages**, [s. l.], v. 6, n. 15, p. 1-18, 2020.

KOTECKA-MAJCHRZAK, K. *et al.* Oilseed proteins: properties and application as a food ingredient. **Trends in Foods Science & Technology**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 160-170, 2020.

LAHAVANYA, D.; SHIRKOLE, S.; BALASUBRAMANIAN, P. Current challenges, applications and future perspectives of scoby cellulose of kombucha fermentation. **Journal Of Cleaner Production**, [s. l.], v. 295, 2021.

LI, D. *et al.* Differentially expressed microRNAs during solid endosperm development in coconut (*Cocos nucifera* L.). **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 122, n.4, p. 666-669, 2009.

LI, C. *et al.* Characterization of the aromatic profile of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) during ripening by HS-SPME-GC/MS and RNA sequencing. **Food Chemistry**, [s. l.], v.355, 2021.

LILLO-PÉREZ, S. *et al.* Probiotics in fruit and vegetable matrices: opportunities for nondairy consumers. **LWT**, [s. l.], v. 151, 2021.

LIMA, E.B.C.; VASCONCELOS, S.M.M. *Cocos nucifera* (L.) (arecaceae): a phytochemical and pharmacological review. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [s. l.], v. 48, n. 11, p. 953-964, 2015.

LIMA, J. R. **Obtenção de extrato hidrossolúvel de amêndoa de castanha de caju**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2017. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164944/1/COT17006.pdf>. Acesso em: 31 mai. de 2023.

LIN, Y. *et al.* Flash extraction optimization of low-temperature soluble pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) and its soft gelation properties. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v.123, p.409-418, 2020.

LISBOA, M.C. *et al.* Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plants. **Biochimie**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 96-104, 2020.

MANIVANNAN, A. *et al.* Biochemical and nutritional characterization of coconut (*cocos nucifera* L.) haustorium. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 238, p.153-159, 2018.

MARSH, A.J. *et al.* Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha tea fungus samples. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 38, p. 171-178, 2014.

MARTINS, C. R; JÚNIOR, L. A. J. **Produção e comercialização de coco no brasil frente ao comércio internacional**: panorama 2014. Embrapa Tabuleiros Costeiros – Aracajú/SE. 2014, 53 p.

MARTINS, M. S. de A. *et al.* The zebrafish (*danio rerio*) as a model for studying voluntary physical exercise and its effects on behavior and metabolism. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 66, 2023.

MENDES, M.K.A. *et al.* Application of multivariate optimization for the selective extraction

of phenolic compounds in cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.). **Talanta**, [s. l.], v. 205, 2019.

MESQUITA, M.C. *et al.* Fermentation of chickpea (*cicer arietinum* L.) and coconut (*coccus nucifera* L.) beverages by *lactobacillus paracasei subsp paracasei* lbc 81: the influence of sugar content on growth and stability during storage. **LWT**, [s. l.], v.132, 2020.

MILLER, D.D.; SCHRICKER, B.R.; RASMUSSEN, R.R. In vitro estimation of iron availability in meals containing soy products, **American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v.34, n.10, p. 2248-2256, 1981.

MHALHEL, K. *et al.* Zebrafish: a model deciphering the impact of flavonoids on neurodegenerative disorders. **Cells**, [s. l.], v. 1, n.2, 2023.

MOREIRA, A.L.P.; LUCHIARI, A.C. Effects of oxybenzone on zebrafish behavior and cognition. **The Science of the Total Environment**, [s. l.], v.808, 2022.

MOSKWA, J. *et al.* In vitro Assessment of the bioaccessibility of zn, ca, mg, and se from various types of nuts. **Foods**, [s. l.], v.12, n.24, p.1-12, 2023.

MÜHLBAUER, W.; MÜLLER, J. **Coconut (Cocos nucifera L.)**. In: MÜHLBAUER, Werner.; MÜLLER, Joachim. Drying Atlas. [s. l.]: Woodhead Publishing, p. 143–150, 2020.

MUNIZ, C.C.R. *et al.* The ultrastructure of shelled and unshelled cashew nuts. **Micron**, [s. l.], v. 54–55, p. 52-56, 2013.

NAGARAJAN, S. *et al.* Antioxidant activity of synthetic polymers of phenolic compounds. **Polymers**. [s. l.], v.12, n.8, 2020.

NARAYANANKUTTY, A. *et al.* Variations in the composition, cytoprotective and anti-inflammatory effects of natural polyphenols of edible oils extracted from fresh and dried coconut testa. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [s. l.], v. 5, n. 8, p. 1-6, 2021.

NETO, J.V. *et al.* Valorization of ellagic acid from chestnut shell as a natural anti-anxiety food supplement. **Porto Journal of Engineering**, [s. l.], v.8, n.5, p.3-9, 2022.

NISHI, S. *et al.* Impact of nut consumption on cognition across the lifespan. **Nutrients**, [s. l.], v.15, n. 4, 2023.

OECD, Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 2, OECD Publishing, Paris, 2019. Disponível em: [https://www.oecdilibrary.org/environment/test-no-203-fish-acute-toxicity-test\\_9789264069961-en](https://www.oecdilibrary.org/environment/test-no-203-fish-acute-toxicity-test_9789264069961-en). Acesso em: 21 ago de 2023.

OLUOCH, P.; NYABOGA, E.N.; BARGUL, J.L. Analysis of genetic diversity of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) genotypes grown in Kenya by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. **Annals of Agrarian Science**, [s. l.], v. 16, n. 4, p.367-375, 2018.

PAIVA, F. F. A.; GARRUTI, D. S.; SILVA NETO, R. M. **Aproveitamento Industrial do caju**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. 88p.

PANNIA, E. *et al.* Acute ethanol exposure induces behavioural differences in two zebrafish (*Danio rerio*) strains: a time course analysis. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v.259, p.174-85, 2014.

PATRA, T., RINNAN, Å., OLSEN, K. The physical stability of plant-based drinks and the analysis methods thereof. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 118, 2021.

PENHA, C.B. *et al.* Plant-based beverages: ecofriendly technologies in the production process. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v.72, 2021.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, M.L. *et al.* Plant-based beverages as milk alternatives? Nutritional and functional approach through food labelling. **Food Research International**, [s. l.], v. 173, n.1, 2023.

PIMENTEL, T.C. *et al.* Vegan probiotic products: a modern tendency or the newest challenge in functional foods. **Food Research International**, [s. l.], v. 140, 2021.

PISTOLLATO, F. *et al.* Nutritional patterns associated with the maintenance of neurocognitive functions and the risk of dementia and alzheimer's disease: A focus on human studies. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 131, p.32-43, 2018.

PRASERTSRI, P. *et al.* Immediate effects of passion fruit juice supplementation on working ability and attention in healthy participants. **Current Research in Physiology**, [s. l.], v.7, 2024.

PRITAM, P. *et al.* Antioxidants in alzheimer's disease: current therapeutic significance and future prospects. **Biology**, [s. l.], v.11, n.2, 2022.

POPOVA, A.; MIHAYLOVA, D.; LANTE, A. Insights and perspectives on plant-based beverages. **Plants**, [s. l.], v. 12, n.19, 2023.

QUINTERO-SOTO, M. F. *et al.* Comparison of phytochemical profile and in vitro bioactivity of beverages based on the unprocessed and extruded sesame (*sesamum indicum* L.) Seed byproduct. **Foods**, [s. l.], v. 11, n. 20, 2023.

RAHIM, N. *et al.* Virgin coconut oil-induced neuroprotection in lipopolysaccharide-challenged rats is mediated, in part, through cholinergic, anti-oxidative and anti-inflammatory pathways. **Journal of Dietary Supplements**, [s. l.], v. 18, p.655-681, 2020.

RAES, K. *et al.* Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 37, n.1, p.32-41, 2014.

RASIKA, D.M.D. *et al.* Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v.38, p.8-20, 2021.

REBOUÇAS, M.C. **Desenvolvimento de bebida prebiótica à base de amêndoa da castanha de caju e maracujá: aceitação e expectativa do consumidor.** 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

REIS, L.C.R. *et al.* Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v.55, n.7, p.2679-2691, 2018.

RICHETTI, S.K. *et al.* Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v.217, n.1, p.1-15, 2011.

RINCON, L. BOTELHO, R.B.A.; ALENCAR, E.R. Development of novel plant-based milk based on chickpea and coconut. **LWT**, [s. l.], v. 128, 2020.

ROJAS-GARCÍA, A. *et al.* Neuroprotective effects of agri-food by-products rich in phenolic compounds. **Nutrients**, [s. l.], v. 15, n.2, 2023.

ROTTA, E.M. *et al.* Use of passion fruit seed extract (*Passiflora edulis* Sims) to prevent lipid oxidation in dairy beverages during storage and simulated digestion. **LWT**, [s. l.], v.123, 2020.

RUFINO MDS. *et al.* 2007. **Metodologia Científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre abts+. Disponível em: [https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10225/1/Cot\\_128.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10225/1/Cot_128.pdf). Acesso em: 07 abr. 2024.

SALEEM, S.; KANNAN, R.R. Zebrafish: an emerging real-time model system to study Alzheimer's disease and neurospecific drug discovery. **Cell Death Discovery**, [s. l.], v.4, n.45, 2018.

SANCHES, V.L.; PEIXOTO, R.R.A.; CADORE, S. Phosphorus and zinc are less bioaccessible in soy-based beverages in comparison to bovine milk. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v.65, 2020.

SANTOS, K.L. *et al.* Mixed leather of açai, banana, peanut, and guarana syrup: the effect of agar and gellan gum use on quality attributes. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v.26, p.1-11, 2021.

SCARMEAS, N.; ANASTASIOU, C. A.; YANNAKOULIA, M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. **The Lancet Neurology**, [s. l.], v.17, n. 11, p. 1006-1015, 2018.

SCHULZ, M. *et al.* Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, [s. l.], v.228, p.447-454, 2017.

SHARIFUDIN, S.A. *et al.* Fermentation and characterisation of potential kombucha cultures on papaya-based substrates. **LWT**, [s. l.], v.151, 2021.

SHENOY, A. *et al.* The brilliance of the zebrafish model: perception on behavior and alzheimer's disease. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [s. l.], v.16, 2022.

SIDOROVA, Y.S. *et al.* Anxiolytic and antioxidant effect of phytoecdysteroids and polyphenols from chenopodium quinoa on an in vivo restraint stress model. **Molecules**. [s. l.], v.27, n.24, 2022.

SILVA, K.A. *et al.* Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 34, 2021.

SOUSA, T.L.T.L. *et al.* Aspectos nutricionais do caju e panorama econômico da cajucultura. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 11, 2021.

STROEBEL, D.; PAOLETTI, P. Architecture and function of NMDA receptors: an evolutionary perspective. **The Journal of physiology**, [s. l.], v.599, n.10, p.2615-2638, 2021.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Evaluation of cooking methods on the bioactive compounds of cashew apple fibre and its application in plant-based foods. **Heliyon**, [s. l.], v. 6, n. 11, 2020.

TAL, Y. *et al.* The neuroprotective properties of a novel variety of passion fruit. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 359-369. 2016.

TAN, J. K. *et al.* Zebrafish: a pharmacological model for learning and memory research. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n.21, 2022.

TANG, A.L. *et al.* Fermentation of calcium-fortified soymilk with *Lactobacillus*: effects on calcium solubility, isoflavone conversion, and production of organic acids. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 72, n.9, p.M431-M436, 2007.

TARDY, A.L. *et al.* Vitamins and minerals for energy, fatigue and cognition: a narrative review of the biochemical and clinical evidence. **Nutrients**, [s. l.], v.12, n.1, 2020.

TEIXEIRA, J.L.P.; MILANI, R.F.; MORGANO, M.A. Selenium in plant-based beverages: How can in vitro bioaccessibility contribute to an accurate daily intake?. **Journal of Trace Elements and Minerals**, [s. l.], v.8, 2024.

THEODORE, L. E. *et al.* Nut consumption for cognitive performance: a systematic review. **Advances in Nutrition**, [s. l.], v.12, n.3, p.777-792, 2020.

TOSH, S.; BORDENAVE, N. Emerging science on benefits of whole grain oat and barley and their soluble dietary fibers for heart health, glycemic response, and gut microbiota. **Nutrition reviews**, [s. l.], v. 78, n.1, p. 13-20, 2020.

TRAN, S.; FACCIOL, A.; GERLAI, R. Alcohol-induced behavioral changes in zebrafish: The role of dopamine D2-like receptors. **Psychopharmacology**, [s. l.], v.233, n.11, p.2119-2128, 2016.

TULASHIE, S.K. *et al.* Production of coconut milk: A sustainable alternative plant-based milk. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, [s. l.], v.6, 2022.

UDECHUKWU, M.; COLLINS, S.; UDENIGWE, C. Prospects of enhancing dietary zinc bioavailability with food-derived zinc-chelating peptides. **Food & function**, [s. l.], v.7, n.10, p.4137-4144, 2016.

VAIKMA, H. *et al.* Market mapping of plant-based milk alternatives by using sensory (RATA) and GC analysis. **Future Foods**, [s. l.], v. 4, 2021.

VARGAS, B.K.; FABRICIO, M.F.; AYUB, M.A.Z. Health effects and probiotic and prebiotic potential of kombucha: a bibliometric and systematic review. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 44, 2021.

VEURINK, G.; PERRY, G.; SINGH, S.K. Role of antioxidants and a nutrient rich diet in alzheimer's disease. **Open Biology**, [s. l.], v.10, n.6, 2020.

VUKIĆ, V. *et al.* The application of kombucha inoculum as an innovative starter culture in fresh cheese production. **LWT**, [s. l.], v. 151, 2021.

WANG, M. *et al.* Quantitative determination of free and esterified phytosterol profile in nuts and seeds commonly consumed in China by SPE/GC–MS. **LWT**, [s. l.], v. 5, n. 100, p. 355-361, 2019.

WANG, Y.; YU, R.; CHOU, C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 128-135, 2006.

WEI, P. *et al.* Sesame (*sesamum indicum* L.): a comprehensive review of nutritional value, phytochemical composition, health benefits, development of food, and industrial applications. **Nutrients**, [s. l.], v.14, n. 19, 2022.

WEIS, C.M.S.C. *et al.* Water-soluble vegetable extract of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) fermented with water kefir: development and characterization. **Food and Humanity**, [s. l.], v. 2, 2024.

WU, Z. *et al.* Resveratrol and organic selenium-rich fermented milk reduces D-galactose-induced cognitive dysfunction in mice. **Food & function**, [s. l.], v.12, n.3 p.1318-1326, 2021.

XIA, X. *et al.* Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v.62, 2019.

XIANG, H. *et al.* Fermentation-enabled wellness foods: a fresh perspective. **Food Science and Human Wellness**, [s. l.], v.8, n.3, p. 203-243, 2019.

XIE, A. *et al.* A review of plant-based drinks addressing nutrients, flavor, and processing technologies. **Foods**, [s. l.], v. 12, n.21, 2023.

YILMAZ, C.; GÖKMEN, V. Neuroactive compounds in foods: Occurrence, mechanism and potential health effects. **Food research international**, [s. l.], v. 128, 2020.

YOSHIDA M. Incorporating ventilatory activity into a novel tank test for evaluating drug effects on zebrafish. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 257, 2022.

ZEC, M.; GLIBETIC, M. Health benefits of nut consumption. **Reference Module In Food Sciences**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 1-13, 2018.

ZERAIK, M.L. *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of passion fruit (*Passiflora edulis* and *Passiflora alata*) extracts on stimulated neutrophils and myeloperoxidase activity assays. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 128, n. 2, p.259-265, 2011.

ZHANG, J. *et al.* Phytochemistry, nutritional composition, health benefits and future

prospects of passiflora: A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 428, 2023.




ZHAO, R. *et al.* Association of dietary and supplement intake of antioxidants with risk of dementia: a meta-analysis of cohort studies. **Journal of Alzheimer's disease**, [s. l.], v.99, n.1, p.35-50, 2024.

ZHOU, L., YARRA, R., CAO, H. SSR based association mapping analysis for fatty acid content in coconut flesh and exploration of the elite alleles in *cocos nucifera* L. **Current Plant Biology**, [s. l.], v. 21, 2020.

ZHU, Y. *et al.* B-vitamin enriched fermented soymilk: a novel strategy for soy-based functional foods development. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v.105, p.43-55, 2020.

## APÊNDICE A - CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO

### ANIMAL

 <p>UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ</p>	<p><b>Comissão de Ética para o Uso de Animais</b>          Av. Dr. Silas Munguba, 1700 – Itaperi          CEP 60740-903 – fone 3101-9890  <a href="mailto:ceua.uece@uece.br">ceua.uece@uece.br</a> – <a href="http://www.uece.br/ceua">www.uece.br/ceua</a></p>	 <p>GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ  <small>Assessoria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento</small></p>																																																						
<h3>CERTIFICADO</h3> <p>Certificamos que o Projeto intitulado “Uso do Zebrafish (<i>Danio rerio</i>) como modelo alternativo para Investigação do potencial farmacológico de produtos naturais e sintéticos” registrado sob o número 04983945/2021, tendo como pesquisador principal Jane Eire Silva Alencar de Menezes, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA – UECE). Este certificado expira-se em 31 de dezembro de 2025.</p>																																																								
<h3>CERTIFICATE</h3> <p>We hereby certify that the Project entitled “Use of Zebrafish (<i>Danio rerio</i>) as an alternative model for Investigation of the pharmacological potential of natural and synthetic products” registered with the protocol 04983945/2021, under the supervision of Jane Eire Silva Alencar de Menezes, is in agreement with Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation of Ceará State University (CEUA – UECE). This certificate will expire on December 31<sup>st</sup>, 2025.</p>																																																								
<h3>RESUMO</h3> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Vigência do projeto</td> <td style="width: 20%;">Início</td> <td style="width: 20%;">Agosto/2023</td> <td style="width: 10%;">Fim</td> <td style="width: 20%;">31 de dezembro de 2025</td> </tr> <tr> <td>Espécie/Linhagem</td> <td colspan="4">Danio rerio - Zebrafish (peixe paulistinha)</td> </tr> <tr> <td>Número de animais</td> <td>6000</td> <td>Peso</td> <td>0,5 g</td> <td>Idade</td> </tr> <tr> <td>Sexo</td> <td>3000</td> <td>Feminino</td> <td>3000</td> <td>Masculino</td> </tr> <tr> <td>Origem</td> <td colspan="4">Fornecedor certificado</td> </tr> <tr> <td>Metodologia</td> <td>X</td> <td>Adequada</td> <td></td> <td>Não adequada</td> </tr> <tr> <td>Cronograma</td> <td>X</td> <td>Adequado</td> <td></td> <td>Ausente/ Não adequado</td> </tr> <tr> <td>Ofício de encaminhamento</td> <td>X</td> <td>Presente</td> <td></td> <td>Ausente/ Não adequado</td> </tr> <tr> <td>Orçamento</td> <td>X</td> <td>Adequado</td> <td></td> <td>Ausente/ Não adequado</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Financiamento</td> <td>Órgão de fomento</td> <td colspan="3">Recursos de Pesquisa e Parcerias</td> </tr> <tr> <td>Edital ou N. processo</td> <td colspan="3">-</td> </tr> </table>			Vigência do projeto	Início	Agosto/2023	Fim	31 de dezembro de 2025	Espécie/Linhagem	Danio rerio - Zebrafish (peixe paulistinha)				Número de animais	6000	Peso	0,5 g	Idade	Sexo	3000	Feminino	3000	Masculino	Origem	Fornecedor certificado				Metodologia	X	Adequada		Não adequada	Cronograma	X	Adequado		Ausente/ Não adequado	Ofício de encaminhamento	X	Presente		Ausente/ Não adequado	Orçamento	X	Adequado		Ausente/ Não adequado	Financiamento	Órgão de fomento	Recursos de Pesquisa e Parcerias			Edital ou N. processo	-		
Vigência do projeto	Início	Agosto/2023	Fim	31 de dezembro de 2025																																																				
Espécie/Linhagem	Danio rerio - Zebrafish (peixe paulistinha)																																																							
Número de animais	6000	Peso	0,5 g	Idade																																																				
Sexo	3000	Feminino	3000	Masculino																																																				
Origem	Fornecedor certificado																																																							
Metodologia	X	Adequada		Não adequada																																																				
Cronograma	X	Adequado		Ausente/ Não adequado																																																				
Ofício de encaminhamento	X	Presente		Ausente/ Não adequado																																																				
Orçamento	X	Adequado		Ausente/ Não adequado																																																				
Financiamento	Órgão de fomento	Recursos de Pesquisa e Parcerias																																																						
	Edital ou N. processo	-																																																						
<p>Fortaleza, 21 de Julho 2023.</p> <p style="font-size: small;">Documento assinado digitalmente</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div> <p><b> VANIA MARILANDE CECCATTO</b></p> <p style="font-size: x-small;">Data: 21/07/2023 08:52:03 -0300</p> <p style="font-size: x-small;">Verifique em <a href="https://validar.br.gov.br">https://validar.br.gov.br</a></p> </div> </div> <p style="margin-top: 10px;"><b>Vania Marilande Ceccatto</b> Presidente CEUA-UECE</p>																																																								