

EFEITO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL SIMULADA NO TEOR DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM CULTIVARES BIOFORTIFICADAS DE FEIJÃO-CAUPI

EFFECT OF SIMULATED GASTROINTESTINAL DIGESTION ON BIOACTIVE COMPOUNDS CONTENT IN BIOFORTIFIED COWPEA CULTIVARS

Nara Vanessa dos Anjos Barros^{1*}, Bruna Barbosa de Abreu², Maurisrael de Moura Rocha³, Marcos Antônio da Mota Araújo⁴, Regilda Saraiva dos Reis Moreira-Araújo⁵

RESUMO: Esta pesquisa objetivou avaliar o efeito da digestão gastrointestinal simulada *in vitro* no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de grãos de cultivares biofortificadas de feijão-caupi. Foram determinados os compostos fenólicos totais por espectrofotometria e a atividade antioxidante pelo método de captura de radicais livres ABTS. A simulação da digestão gastrointestinal foi feita *in vitro*, em quatro fases: oral, gástrica, intestinal e colônica. Antes da digestão, o cozimento promoveu uma redução do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante em todas as amostras analisadas. Após a ação das enzimas digestivas, houve diferença no comportamento das cultivares cruas e cozidas. No geral, a digestão simulada *in vitro* dos grãos das cultivares promoveu um aumento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Concluiu-se que mesmo após o processamento térmico e digestão gastrointestinal simulada, nos grãos crus e cozidos das cultivares avaliadas estes compostos podem estar acessíveis para as células do trato gastrointestinal e exercer seus efeitos benéficos à saúde no organismo.

PALAVRAS-CHAVE: *Vigna unguiculata*. Atividade antioxidante. Bioacessibilidade.

ABSTRACT: The objective of this research was to evaluate the effect of simulated gastrointestinal digestion *in vitro* on the bioactive compounds content and antioxidant activity of biofortified cowpea cultivars. The total phenolic compounds were determined by spectrophotometry and the antioxidant activity by the ABTS free radical capture method. The simulation of gastrointestinal digestion was done *in vitro*, in four phases: oral, gastric, intestinal and colonic. Before digestion, the cooking promoted a reduction of the total phenolic compounds content and the antioxidant activity in all samples analyzed. After the action of the digestive enzymes, there was difference in the behavior of the raw and cooked cultivars. In general, the *in vitro* simulated digestion of the cultivars' grains promoted an increase in the content of phenolic compounds and antioxidant activity. It was concluded that even after thermal processing and simulated gastrointestinal digestion, in the raw and cooked grains of the evaluated cultivars these compounds may be accessible to the cells of the gastrointestinal tract and exert their beneficial effects on health in the organism.

KEY WORDS: *Vigna unguiculata*. Antioxidant activity. Bioaccessibility.

¹Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, Picos-PI. nara.vanessa@hotmail.com

²Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina-PI. brunnabarbosa.deabreu@gmail.com

³Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI. maurisrael.rocha@embrapa.br

⁴Fundação Municipal de Saúde-FMS, Teresina-PI. regmarjoao@hotmail.com

⁵ Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Teresina-PI. regilda@ufpi.edu.br

INTRODUÇÃO

Um dos principais temas a respeito dos efeitos benéficos dos polifenóis é a sua biodisponibilidade e destino metabólico. A investigação sobre a biodisponibilidade de compostos fenólicos e outros antioxidantes de matrizes sólidas é importante, uma vez que apenas os compostos liberados da matriz do alimento e/ou absorvidos no intestino delgado ficam biodisponíveis e em condição de serem utilizados para as funções do corpo, podendo, assim, exercer os seus efeitos benéficos (ALMINGER et al., 2014).

Para Barba et al. (2017), a bioacessibilidade é definida como a fração de um nutriente que é liberada da matriz de um alimento no trato gastrointestinal (durante a digestão), tornando-se disponível para a absorção intestinal, isto é, pronto para entrar na corrente sanguínea. Dessa maneira, apesar de os termos “biodisponibilidade” e “bioacessibilidade” serem frequentemente usados indistintamente, é importante compreender a diferença entre eles.

O efeito da digestão gastrointestinal (DG) simulada *in vitro* no conteúdo de compostos fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante (AA) de cultivares de feijão-caupi foi investigada por Hachibamba et al. (2013) e Mtollo; Gerrano e Mellem (2017), e verificaram que estes foram reduzidos após o cozimento, com um aumento de forma significativa após a DG.

Assim, neste estudo, objetivou-se avaliar o efeito da DG simulada *in vitro* no teor de compostos bioativos e atividade antioxidante de grãos de cultivares biofortificadas de feijão-caupi, tendo em vista que não existem estudos abordando esta temática em cultivares biofortificadas da leguminosa.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas duas cultivares melhoradas geneticamente de feijão-caupi: BRS Aracê e BRS Tumucumaque, fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Meio-Norte, localizada em Teresina-Piauí. As amostras dos grãos crus foram trituradas em moinho de facas e peneiradas (30 *mesh*). O feijão-caupi foi cozido em uma proporção feijão: água de 1:3 (p/v) em panela de pressão doméstica de 2 L, durante 13 minutos. Os grãos e o caldo de cocção foram macerados e armazenados em sacos de polietileno ($\pm 8^{\circ}\text{C}$) até o momento das análises.

O conteúdo de FT foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico, utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu* (SINGLETON; ROSSI, 1965). A AA foi determinada pelo método de captura dos radicais 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (RE et al., 1999). A simulação da digestão *in vitro* de 1,5 g das amostras, diluída em água MiliQ (1:4, m.v-1), foi realizada em quatro etapas: oral, gástrica, duodenal e simulação da

hidrólise por enzimas bacterianas presentes no intestino grosso, conforme protocolos de Minekus et al. (2014) e Fogliano et al. (2011).

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram descritos em tabelas de frequência simples e expressos como média \pm desvio-padrão. Realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste *Tukey*, considerando o $p < 0,05$ para todos os testes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão demonstrados os teores de FT nos grãos das cultivares analisadas, antes e após a análise de DG, considerando cada fase do processo. Antes da digestão, após o cozimento, houve uma redução estatisticamente significativa no conteúdo dos destes compostos, condizente com outros estudos com a mesma leguminosa (BARROS et al., 2017).

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos totais antes e após a simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* considerando cada fase, em grãos de cultivares crus e cozidos de feijão-caupi.

Etapas da digestão	BRS Aracê (mg EAG.100 ⁻¹ g)		BRS Tumucumaque (mg EAG.100 ⁻¹ g)	
	Grão cru	Grão cozido	Grão cru	Grão cozido
Antes da digestão	227,98 \pm 4,12 ^a A	126,58 \pm 0,00 ^a A	297,23 \pm 4,24 ^a A	147,15 \pm 6,94 ^b A
Oral	228,70 \pm 2,27 ^a A	135,37 \pm 0,00 ^b B	281,80 \pm 2,27 ^a B	154,68 \pm 0,00 ^b B
Gástrica	328,67 \pm 0,00 ^a B	87,31 \pm 0,00 ^b C	277,18 \pm 4,55 ^a C	88,86 \pm 2,19 ^b C
Duodenal	367,40 \pm 0,16 ^a C	107,81 \pm 5,23 ^b D	312,24 \pm 0,00 ^a D	93,00 \pm 5,23 ^b D
Colônica	34,00 \pm 0,00 ^a D	19,52 \pm 0,00 ^b E	32,39 \pm 2,27 ^a E	16,30 \pm 2,27 ^b E

Letras subscritas minúsculas iguais entre os tipos de feijão cru e cozido, não há diferença significativa entre as médias segundo teste t de *Student*, ao nível de 5% $p \leq 0,05$, IC95%. Letras maiúsculas iguais entre as fases, não há diferença significativa entre as médias segundo o teste do one way ANOVA: post Hoc multiple comparisons, utilizou-se o teste de *Tukey* ao nível de 5% $p < 0,05$, IC95%.

Após a digestão, houve diferença no comportamento das cultivares cruas e cozidas. Observou-se que houve um aumento no teor destes compostos após a DG (grãos crus), até a fase duodenal, resultado este condizente com outros estudos semelhantes (HACHIBAMBA et al., 2013; MTOLLO; GERRANO; MELLEM, 2017). Contudo, Nderitu et al. (2013) obtiveram resultados diferentes, o qual observaram uma redução de alguns tipos de ácidos fenólicos e flavonoides após a DG. Além disso, os autores concluíram que mesmo após a digestão, os FT do feijão-caupi inibiram danos induzidos por radicais no DNA e podem reduzir o risco de problemas de saúde relacionados ao estresse oxidativo.

Para os grãos cozidos houve uma diminuição no teor de FT na passagem da fase oral para a gástrica. Na fase colônica é possível verificar uma diminuição no teor destes compostos para ambos os grãos das cultivares cruas e cozidas avaliadas. Para Barba et al. (2017), a fermentação colônica pela microbiota intestinal e as interações entre estes compostos e a microbiota intestinal são responsáveis pela formação de metabólitos que são efetivamente absorvidos, contribuindo para os efeitos benéficos à saúde dos polifenóis ingeridos.

Na Tabela 2 a seguir demonstra-se a atividade antioxidante pelo método ABTS, antes e após a DG. Antes da digestão, observou-se que após o cozimento houve uma diminuição na atividade antioxidante, resultado já reportado por Barros et al. (2017) e Mtoló, Gerrano e Mellem (2017).

Tabela 2 – Atividade antioxidante antes e após a simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* considerando cada fase, em grãos de cultivares crus e cozidos de feijão-caupi.

Etapas da digestão	BRS Aracê ($\mu\text{mol.Trolox.}100\text{g}^{-1}$)		BRS Tumucumaque ($\mu\text{mol.Trolox.}100\text{g}^{-1}$)	
	Grão cru	Grão cozido	Grão cru	Grão cozido
Antes da digestão	799,21 \pm 15,71 ^a A	428,88 \pm 6,74 ^b A	837,73 \pm 15,40 ^a A	528,92 \pm 17,84 ^a A
Oral	437,67 \pm 1,87 ^a C	398,84 \pm 0,00 ^b C	436,30 \pm 0,00 ^a C	300,18 \pm 0,00 ^a C
Gástrica	794,51 \pm 0,00 ^a AB	517,15 \pm 0,00 ^b B	1164,53 \pm 26,16 ^a B	584,70 \pm 0,00 ^a B
Duodenal	1582,77 \pm 0,00 ^a D	1579,22 \pm 5,02 ^a D	1654,28 \pm 26,54 ^a D	703,30 \pm 2,65 ^a D
Colônica	227,98 \pm 0,00 ^a E	203,96 \pm 0,02 ^b E	227,98 \pm 0,00 ^a E	200,70 \pm 0,00 ^a E

Letras subscritas minúsculas iguais entre os tipos de feijão cru e cozido, não há diferença significativa entre as médias segundo teste t de *Student*, ao nível de 5% $p \leq 0,05$, IC95%. Letras maiúsculas iguais entre as fases, não há diferença significativa entre as médias segundo o teste do one way ANOVA: post Hoc multiple comparisons, utilizou-se o teste de *Tukey* ao nível de 5% $p < 0,05$, IC95%.

Para os grãos crus e cozidos, houve um aumento da atividade antioxidante na passagem das fases oral para gástrica, e gástrica para duodenal. Considerando somente a fase duodenal, os resultados do presente estudo são semelhantes aos obtidos por Mtoló, Gerrano e Mellem (2017), que mostraram que houve uma diminuição significativa na atividade antioxidante após o processamento e um aumento desta após a digestão.

Para Barba et al. (2017), é importante considerar alguns efeitos benéficos da AA dos compostos bioativos não absorvidos, que pode ser importante no estômago e nos intestinos, uma vez que estes órgãos são constantemente expostos às espécies reativas de oxigênio (EROs). Assim, estes compostos têm um efeito local na manutenção do equilíbrio redox e consequentemente podem impedir o desenvolvimento de doenças gastrintestinais relacionadas à geração de EROs durante o processo de digestão, mesmo quando não absorvidos.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que, após o cozimento, houve uma redução no conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nas cultivares de feijão-caupi avaliadas. A digestão simulada *in vitro* dos grãos das cultivares promoveu um aumento no teor de compostos fenólicos e na atividade antioxidante, demonstrando que possivelmente no organismo *in vivo*, estes compostos podem estar acessíveis para as células do trato gastrointestinal e exercer seus efeitos benéficos à saúde no organismo.

REFERÊNCIAS

- ALMINGER, M. et al. *In Vitro* Models for Studying Secondary Plant Metabolite Digestion and Bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 413-436, 2014.
- BARBA, F. J. et al. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. **Trends in Food Science & Technology**, .v. 67, p. 195-206, 2017.
- BARROS, N. V. A. et al. Effect of cooking on the bioactive compounds and antioxidant activity in grains cowpea cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 5 (Especial), p. 824-831, 2017.
- FOGLIANO, V. et al. *In vitro* bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols present in the water-insoluble cocoa fraction. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, p. 1-12, 2011.
- HACHIBAMBA, T. et al. Effect of simulated gastrointestinal digestion on phenolic composition and antioxidant capacity of cooked cowpea (*Vigna unguiculata*) varieties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 2638–2649, 2013.
- MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, p. 1113–1124, 2014.
- MTOLO, M.; GERRANO, A.; MELLEM, J. Effect of simulated gastrointestinal digestion on the phenolic compound content and *in vitro* antioxidant capacity of processed Cowpea (*V. unguiculata*) cultivars. **Cyta – Journal of Food**, v. 15, n. 3, p. 391–399, 2017.
- NDERITU, A. M. et al. Phenolic composition and inhibitory effect against oxidative DNA damage of cooked cowpeas as affected by simulated *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1763–1771, 2013.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231- 1237, 1999.
- SINGLETON, V. I.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid agents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

