

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/12/2020.

Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Efeito do consumo diário de suco de laranja
sobre a microbiota intestinal, composição
corporal e perfil lipídico e glicídico de mulheres**

Melaine Priscila Fidélis

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Alimentos e
Nutrição para obtenção do título de
Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Thaís
Borges César

Araraquara

2018

Efeito do consumo diário de suco de laranja sobre a microbiota intestinal, composição corporal e perfil lipídico e glicídico de mulheres

Melaine Priscila Fidélis

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Alimentos e
Nutrição para obtenção do título de
Doutor em Alimentos e Nutrição.

Área de Concentração: Ciências
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Thaís
Borges César

Araraquara
2018

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

- F452e** Fidélis, Melaine Priscila.
 Efeito do consumo diário de suco de laranja sobre a microbiota intestinal, composição corporal e perfil lipídico e glicídico de mulheres / Melaine Priscila Fidélis. – Araraquara, 2018.
 88 f. : il.
- Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração: Ciências Nutricionais.
- Orientadora: Thais Borges Cesar.
1. Prebióticos. 2. Microbiota Intestinal. 3. Suco de Laranja 100% puro.
 4. Marcadores Metabólicos. 5. Composição Corporal. I. Cesar, Thais Borges, orient.
 II. Título.

CAPES: 50700006

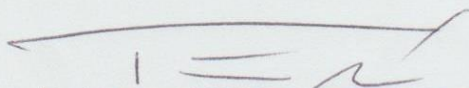
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Influência do efeito prebiótico do suco de laranja na excreção urinária das flavanonas após ingestão crônica de suco de laranja

AUTORA: MELAINE PRISCILA FIDELIX

ORIENTADORA: THAIS BORGES CESAR

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área de conhecimento: Nutrição pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. THAIS BORGES CESAR

Departamento de Alimentos e Nutrição / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Profa. Dra. PAULA GARCIA CHIARELLO

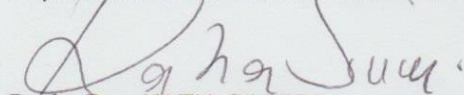
Departamento de Clínica Médica / Faculdade de Medicina do Câmpus de Ribeirão Preto da USP

Profa. Dra. RENATA MARIA GALVÃO DE CAMPOS CINTRA

Departamento de Educação / Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu

Prof. Dr. ANDERSON MARLIERE NAVARRO

Departamento Ciências da Saúde / Faculdade de Medicina do Câmpus de Ribeirão Preto da USP



Profa. Dra. KATIA SIVIERI

Departamento de Alimentos e Nutrição / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP- Araraquara

Araraquara, 18 de dezembro de 2018

Dedico

Àqueles que me inspiraram a fazer esta tese,
mas que jamais a lerão.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

À Deus, pela dádiva da vida, luz e força para vencer a todos os desafios.

*Aos meus pais, **Valdecy e Idalina**, que me criaram com muito amor e carinho e foram meus maiores exemplos. A vocês minha eterna gratidão, que vai além dos meus sentimentos.*

*À minha tia **Elaine**, com muito carinho, pela paciência, apoio e contribuição para minha formação. Você foi e sempre será meu maior exemplo na área acadêmica.*

*Aos meus familiares, por me ajudarem, direta ou indiretamente, nesta etapa. Em especial ao meu irmão **Francis** e minha cunhada **Ana Paula**, pela compreensão e apoio, além de me presentear com o sorriso que é a alegria dos meus dias, meu sobrinho **Raul**.*

*Ao meu namorado **Kayque**, que jamais me negou apoio, carinho e incentivo. Obrigada **Mozão** por aguentar tantas crises de estresse e ansiedade e compreender minha ausência pelo tempo dedicado aos estudos.*

*Às amigas do Laboratório de Nutrição/DAN: **Paula, Carolina, Renata, Fernanda, Olívia, Beatriz, Marina e Marília**. Foi com vocês que aprendi a refletir, duvidar e nunca encarar a realidade como pronta. A experiência de uma produção compartilhada com amigos foi a melhor experiência da minha formação acadêmica. Uma vez **Laranjete**, sempre **Laranjete**!*

*Às minhas amigas irmãs: **Mariana Mara, Mariana Donda e Pâmela** pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Com vocês, as pausas para “Os Encontros” entre um parágrafo e outro de produção melhorou tudo o que tenho produzido na vida.*

À todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena!

AGRADECIMENTOS

*À minha orientadora **Profa. Dra. Thais Borges Cesar** pela orientação, dedicação, paciência, amizade e acima de tudo pela confiança.*

*À **Profa. Dra. Katia Sivieri** pela inestimável colaboração desde o planejamento até a análise de dados e discussão. Sem sua cooperação os achados sobre a microbiota não seriam possíveis.*

*À **Mestre Ana Carolina Delgado Lima** pelo companheirismo e auxílio durante a execução deste projeto.*

*À técnica do Laboratório de Nutrição/DAN, **Danielli** e a companheira de laboratório **Paula**, pela preciosa contribuição na execução da fase experimental.*

*À secretária do Departamento de Alimentos e Nutrição/DAN **Renata** pelo suporte e atenção.*

*À Citrosuco S/A, pelo apoio à esta pesquisa, representada pelo **Sr. Helton Leão**.*

Às voluntárias, pela disposição e generosidade.

*À equipe do Laboratório de Análises Clínicas São Lucas, em especial ao **Sérgio Valadão**, pelo suporte durante a coleta das amostras biológicas.*

*Ao **Professor PhD Dragan Milenkovic** da UC Davis School of Medicine pela parceria na realização das análises de sequenciamento do gene RNAr 16S.*

Aos professores integrantes da comissão examinadora pelas valiosas sugestões ao trabalho.

Às funcionárias da Pós-graduação e da Biblioteca pela atenção e competência.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP pela oportunidade.

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

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não
fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as
críticas nos auxiliam muito”*

Chico Xavier

Resumo

Introdução: Aos compostos do suco de laranja 100% puro (SL) são atribuídos várias propriedades biológicas, como atividade antioxidante, anti-hipertensiva, redutora do colesterol e glicemia sanguíneos, e atualmente estudos *in vitro* têm mostrado que o suco de laranja pode ter ação seletiva sob a microbiota intestinal. **Objetivo:** Investigar o impacto do consumo diário de suco de laranja sobre a microbiota intestinal e no perfil glicídico e lipídico em mulheres. **Métodos:** Foram avaliadas 10 mulheres por período de 120 dias, distribuídos em três etapas: (1^a): dieta livre de citrus 30^o dia (30 dias); (2^a) ingestão de 300 mL/dia de SL 90^o dia (60 dias); (3^a) dieta livre de citrus 120^o dia (30 dias). Avaliação dietética e antropometria foram realizadas quinzenalmente durante o período experimental. Foram colhidas amostras de sangue, urina e fezes, no início do estudo e a cada 30 dias, até o final do experimento. Foi realizado: análise dos parâmetros bioquímicos; identificação dos metabólitos urinários por UHPLC-UV-VIS; e análise da composição da microbiota por sequenciamento de gene RNAr 16S. **Resultados:** A avaliação da composição corporal e a excreção urinária não mostraram alterações durante as etapas experimentais. Os parâmetros bioquímicos mostraram diminuição da glicose (-6,25%), da insulina (-32,7%) e da resistência à insulina (-43,8%), além do colesterol total (-13,9%), LDL (-16%) e triglicerídeos (-30%) com a ingestão de SL (90^o dia). Após a parada do consumo de SL (120^o dia), os parâmetros bioquímicos retornaram aos valores iniciais. Foi observado um aumento dos filos Actinobacteria, bem como diminuição dos Firmicutes, Bacteroidetes e Proteobacteria após o consumo de SL (90^o dia). As famílias *Bifidobacterium*, *Lactobacillaceae* e *Streptococcaceae* apresentaram aumento após o consumo de SL. Houve correlação positiva entre *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae* e *Enterobacteriaceae* com glicose, colesterol total, triglicérides, LDL-C, insulina e HOMA-IR, e uma correlação negativa com o HDL-C. *Bifidobacterium*, *Coriobacteriaceae*, *Lachnospiraceae* e *Lactobacillaceae* tiveram correlação negativa com glicose, colesterol total, triglicerídeos, LDL-C, insulina e HOMA-IR, e correlação positiva com HDL-C. **Conclusão:** O suco de laranja mostrou efeito modulador positivo sobre a microbiota intestinal e no perfil glicídico e lipídico de mulheres.

Palavras-chave: Prebióticos, Microbiota Intestinal, Suco de Laranja 100% puro, Marcadores Metabólicos, Composição Corporal.

Abstract

Introduction: 100% pure orange juice (OJ) compounds are assigned to various biological properties, such as antioxidant, antihypertensive, blood cholesterol lowering and glycemia activity. Currently, in vitro studies have shown that orange juice can present selective action of intestinal microbiota.

Objective: To investigate the impact of daily consumption of orange juice on the intestinal microbiota and on the lipid and glucose profile in women.

Methods: Ten women were evaluated for 120 days at three different stages: (1st) citrus-free diet 30th day (30 days); (2nd) intake of 300 mL / day SL 90th day (60 days); (3rd) citrus-free diet 120th day (30 days). Dietary assessment and anthropometry were performed biweekly during the experimental stages. Samples of blood, urine and feces were taken at the beginning of the study, and every 30 days until the end of the experiment. It was carried out: analysis of the biochemical parameters; identification of urinary metabolites by UHPLC-UV-VIS; and analysis of the composition of the microbiota by 16S rRNA gene sequencing. **Results:** Changes during the experimental stages were not found in evaluation of body composition and urinary excretion. Biochemical parameters showed a decrease in glucose (-6.25%), insulin (-32.7%) and insulin resistance (-43.8%), total cholesterol (-13.9%), LDL (-16%) and triglycerides (-30%) with ingestion of OJ (90th day). After stopping OJ intake (120th day), the biochemical parameters returned to the initial values. An increase of Actinobacteria phyla, as well as a decrease of Firmicutes, Bacteroidetes and Proteobacteria after consumption of OJ (90th day) were observed. The families *Bifidobacterium*, *Lactobacillaceae* and *Streptococcaceae* showed an increase after consumption of OJ. There was a positive correlation between *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae* and *Enterobacteriaceae* with glucose, total cholesterol, triglycerides, LDL-C, insulin and HOMA-IR, and a negative correlation with HDL-C. *Bifidobacterium*, *Coriobacteriaceae*, *Lachnospiraceae* and *Lactobacillaceae* will have negative correlation with glucose, total cholesterol, triglycerides, LDL-C, insulin and HOMA-IR, and a positive correlation with HDL-C. **Conclusion:** Orange juice showed a positive modulating effect on the intestinal microbiota and on glucose and lipid profile of women.

Key words: Prebiotic, Intestinal Microbiota, 100% pure Orange Juice, Metabolic biomarkers, Body Composition

Lista de Tabelas

	Página
Capítulo 1.	
Table 1. Baseline characteristics of female volunteers: body composition, metabolic biomarkers, and urinary flavanones (n=10)	65
Table 2A. Nutritional and physicochemical composition in 300 mL of commercial processed orange juice	66
Table 2B. Flavanones in the pellets and supernatant fractions in 300 mL of commercial processed orange juice	66
Table 3. Body composition and metabolic biomarkers of women during clinical trial with citrus-free diet and orange juice supplemented diet (n=10)	67
Table 4. Intake of energy, macronutrients and micronutrients of women during clinical trial with citrus-free diet and orange juice supplemented diet (n=10)	68
Table 5. Metabolites of hesperitin (HSPT) and naringenin (NRGN) in the urine 24 h of women during clinical trial with citrus-free diet and orange juice supplemented diet (n=10)	69

Lista de Figuras

	Página
Introdução Expandida	
Figura 1. Estrutura básica dos Flavonoides	17
Figura 2. Estrutura molecular dos flavonoides	18
Figura 3. Estruturas glicosiladas das flavanonas	19
Figura 4. Metabolismo das flavanonas adaptado	22
Figura 5. Partes que compõem a laranja	24
Capítulo 1.	
Figure 1. Trial design	58
Figure 2: Area under the curve (AUC) and maximum concentration (Cmax) of the glycemic and insulin curves at before and after 60 days of consumption of 100% orange juice (300 mL/d) * p 0.01 (Citrus-free: 30 th x Trial with Orange Juice: 90 th) (n=10)	59
Figure 3: Principle coordinate analyses of the intestinal microbiota of healthy women at before and after 60 days of consumption of 100% orange juice (300 mL/d) (Citrus-free: 30 th x Trial with Orange Juice: 90 th) (n=10)	60
Figure 4: The main bacterial phylum determined in the microbiota from health women at before and after 60 days of consumption of 100% orange juice (300 mL/d) (Citrus-free: 30 th x Trial with Orange Juice: 90 th) (n=10)	61
Figure 5: Microbiota composition at a family level before and after 60 days of consumption of 100% orange juice (300 mL/d) (Citrus-free: 30 th x Trial with Orange Juice: 90 th) (n=10)	62
Figure 6: Relative abundance of bacterial genera in the women microbiota before and after 60 days of consumption of 100% orange juice (300 mL/d) (Citrus-free: 30 th x Trial with Orange Juice: 90 th) (n=10)	63
Figure 7: Correlation between biochemical parameters and bacterial genera. Significant correlations are indicated by asterisk (p < 0.05) (Spearman correlation) (n=10)	64

Sumário

	Página
Resumo	viii
Abstract	ix
Lista de Tabelas	x
Lista de Figuras	xi
Introdução	13
Capítulo 1. Daily consumption of orange juice causes modulation of intestinal microbiota and affects the levels of blood glucose blood glucose and lipids of women: controlled clinical trial	30
Abstract	31
Introduction	32
Materials and Methods	34
Results	41
Discussion/Conclusion	45
References	51
Considerações Finais	70
Referências	71
Apêndices A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	78
Apêndice B – Questionário de seleção	80
Apêndice C – Modelo de registro alimentar	82
Apêndice D – Questionário de frequência alimentar	84
Anexo A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética	87
Anexo B – Parecer <i>ClinicalTrials</i>	88

Introdução Expandida

Microbiota

O corpo humano é um ecossistema que sustenta trilhões de microrganismos que vivem principalmente, embora não exclusivamente, dentro do trato gastrointestinal⁽¹⁾. O trato gastrointestinal humano é um ecossistema muito complexo, no qual a microbiota intestinal interage com células hospedeiras e componentes alimentares⁽²⁾. O estômago e o intestino delgado apresentam um ambiente desfavorável para a colonização de bactérias devido a ação bactericida do suco gástrico. Enquanto isso, na região do cólon as bactérias encontram condições favoráveis para a sua proliferação, decorrente do abundante suprimento nutricional e ausência de secreções^(3,4).

Estima-se que o trato gastrointestinal seja habitado por 10^{11} células por mL de conteúdo luminal, compreendendo cerca de 400 a 500 espécies bacterianas⁽⁵⁾. Nos indivíduos saudáveis as bactérias são encontradas de forma heterogênea em todo o trato gastrointestinal. Este é composto por bactérias anaeróbias estritas, que superam as bactérias anaeróbias e aeróbicas facultativas⁽⁶⁾. Embora mais de 100 filos bacterianos tenham sido descritos, os principais filos encontrados são Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria⁽⁷⁾. Entretanto, a microbiota intestinal do adulto é dominada por dois filos: Bacteroidetes e Firmicutes^(2,8).

Durante muitos anos acreditou-se que o bebê era estéril ao nascimento e que a colonização microbiana do intestino começava imediatamente após o nascimento⁽⁹⁾. No entanto, estudos recentes mostram que a colonização pode começar antes do nascimento com colonização microbiana na placenta, no

fluido amniótico e no cordão umbilical⁽¹⁰⁾. Além disso, outros fatores contribuem para a colonização intestinal precoce, como a idade gestacional ao nascimento e o tipo de parto^(9,10). No parto vaginal normal, a microbiota vaginal desempenha um papel fundamental na colonização do bebê ao nascer⁽¹¹⁾, no qual anaeróbios facultativos, como enterobactérias, enterococos e lactobacilos são os primeiros colonizadores⁽¹²⁾. Outra grande influência na microbiota neonatal é a dieta infantil, pois lactentes alimentados no peito têm microbiota enriquecida em *Lactobacillus*, *Staphylococcus* e *Bifidobacterium*, em contrapartida, os bebês alimentados com fórmula têm microbiota dominada por *Roseburia*, *Clostridium*, e *Anaerostipes*⁽¹⁰⁾. Alguns estudos sugerem que a microbiota intestinal atinge composição relativamente estável e semelhante aos adultos, por volta dos 3 anos de idade⁽¹²⁻¹⁴⁾, enquanto outros estudos demonstram que o desenvolvimento é contínuo desde a infância até a adolescência⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Além disso, novas alterações aparecem na senescência, diferindo a microbiota de idosos da microbiota central e dos níveis de diversidade de adultos mais jovens^(13,14).

A composição da microbiota intestinal é influenciada por fatores intrínsecos (fatores genéticos e imunológicos) e extrínsecos (uso medicamentos, dieta e estilo de vida)^(5,6). A microbiota é responsável por proteger a mucosa intestinal contra microrganismos patógenos, modular o sistema imunológico, sintetizar algumas vitaminas, degradar os componentes não digeríveis da dieta e produzir metabólitos, tais como os ácidos graxos de cadeia curta, que são as principais fontes de energia para os colonócitos⁽¹⁸⁻²¹⁾. Para assegurar esses benefícios à saúde do hospedeiro, a microbiota deve

permanecer em homeostase, ou seja, em equilíbrio entre as bactérias comensais e patogênicas⁽²²⁾.

Como já citado, o metabolismo e a composição da microbiota podem ser influenciados pela dieta^(5,18-20,22-24). A ingestão de microrganismos probióticos, ingredientes prebióticos ou combinações simbióticas está fortemente relacionada com a modulação da microbiota intestinal^(5,18-20,22-25). Como prebióticos entende-se como um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros conferindo benefício à saúde. A seletividade não significa necessariamente efeitos em apenas um grupo microbiano; pode se estender a vários grupos microbianos, mas não a todos. Além disso, os microrganismos afetados e os metabólitos produzidos estão associados a efeitos fisiológicos, tais como inibição de patógenos, estimulação imunológica, redução dos níveis lipídicos no sangue, produção de metabólitos que influenciam a função cerebral, energética e cognição, biodisponibilidade mineral, entre outros⁽²⁶⁾.

Um dos componentes dietéticos prebióticos, capazes de modificar microbiota intestinal, são as fibras alimentares. Isso porque, as fibras provenientes da dieta são compostas, principalmente, por polissacarídeos e em menor parte por oligossacarídeos que não são digeridos pelas enzimas intrínsecas do estômago e do intestino humano. Por isso, grande parte das fibras que passam pelo trato gastrointestinal é degradada pela microbiota intestinal, ocorrendo a formação e liberação de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) como produto do metabolismo microbiano^(26,27).

Ainda, estudos sugerem que alimentos ricos em compostos fenólicos também podem atender aos critérios de prebióticos, tendo um impacto significativo sobre a microbiota intestinal, uma vez que grande parte (90-95%) dos polifenóis da dieta não são absorvidos no intestino delgado^(26,28-30). As bactérias presentes no cólon atuam na bioconversão destes compostos, dando origem a uma variedade de metabólitos bioativos, entre estes, os ácidos graxos de cadeia curta, que promovem a manutenção da homeostase intestinal⁽³¹⁾.

Os ácidos graxos de cadeia curta exercem funções no metabolismo humano. Estão relacionados à síntese dos ácidos graxos de cadeia longa (lipogênese), cetogênese (síntese de corpos cetônicos), inibição da síntese de colesterol e atuam como substrato para a via de formação do piruvato da gliconeogênese. Além de serem uma das principais fontes de energia para os colonócitos (mucosa intestinal), os quais estimulam a proliferação celular do epitélio e intensificam a absorção de sódio e água^(26,32-36).

Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza com mais de 8.000 compostos polifenólicos já identificados em plantas, incluindo flavonoides, álcoois fenólicos, lignanas, estilbenos e ácidos fenólicos^(37,38). Podem ser pigmentos, que dão a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário, normalmente derivados de reações de defesa das plantas contra agressões por radiação ultravioleta, radicais livres e agentes patogênicos^(37,39,40). De acordo com estudos epidemiológicos quando ingeridos, esses compostos exercem proteção ao organismo humano contra algumas doenças^(39,41).

Os principais polifenóis encontrados na dieta humana são os ácidos fenólicos e os flavonoides, os quais representam aproximadamente 2/3 e 1/3 do total da ingestão diária de polifenóis, respectivamente^(42,43). Os flavonoides compõem um grupo de polifenóis com estrutura básica comum compreendendo 15 átomos de carbono (C6-C3-C6) no seu núcleo fundamental, com dois anéis aromáticos (anel A e B) unidos por uma cadeia de três átomos de carbono, que pode ou não formar um terceiro anel (anel C) (Figura 1)⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾.

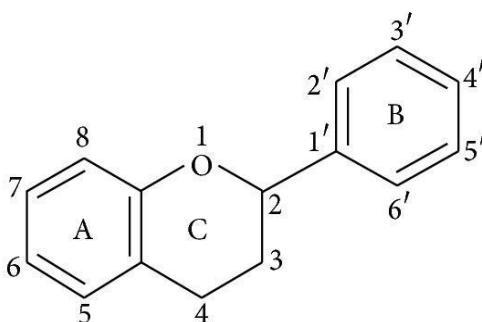


Figura 1. Estrutura básica dos Flavonoides⁽⁴⁶⁾

Uma grande diversidade estrutural ocorre nos flavonoides em função das pequenas modificações químicas ocorridas na estrutura básica destes compostos, que podem ser por meio de hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, hidrogenação, malonilações e sulfatações⁽⁴⁷⁾. Com essas derivações os flavonoides dietéticos são classificados em 6 subclasses: flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, isoflavonas e antocianidinas (Figura 2)⁽⁴⁵⁾.

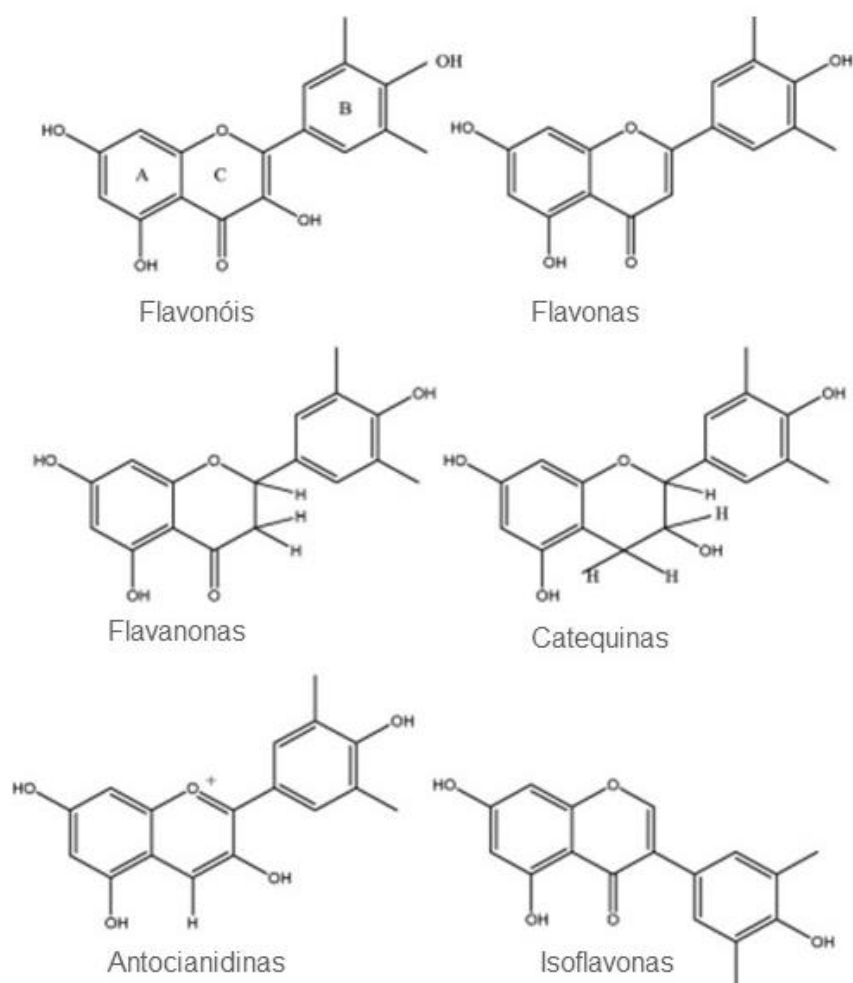


Figura 2. Estrutura molecular dos flavonoides⁽⁴⁵⁾

Nas frutas cítricas, as flavanonas são a classe mais comum de flavonoides, sendo aproximadamente 95% dos flavonoides totais das frutas. Na laranja as flavanonas estão presentes predominantemente nas formas glicosídicas, naringina e hesperidina; mas também são encontradas nas formas agliconas, naringenina e hesperitina^(38,48). A forma glicosídica é caracterizada pela presença de uma cadeia de três carbonos saturados e um átomo de oxigênio no C4, sendo geralmente glicosiladas por um dissacarídeo na posição C7⁽⁴⁶⁾. Este dissacarídeo pode ser uma neohesperidose, que confere o sabor

amargo, encontrada na naringina em *grapefruit*, ou uma rutinose, insípida, encontrada na hesperidina em laranjas⁽⁴³⁾.

As flavanonas contêm vários glicosídeos, sendo os principais nas laranjas, da hesperidina: hesperitina-7-O-rutinosídeo, hesperitina-7-O-glicuronídeo; e da naringina: naringenina-7-O-rutinosídeo, naringenina-7-O-glicuronídeo, naringenina-4-O-glicuronídeo^(46,49,50) (Figura 3).

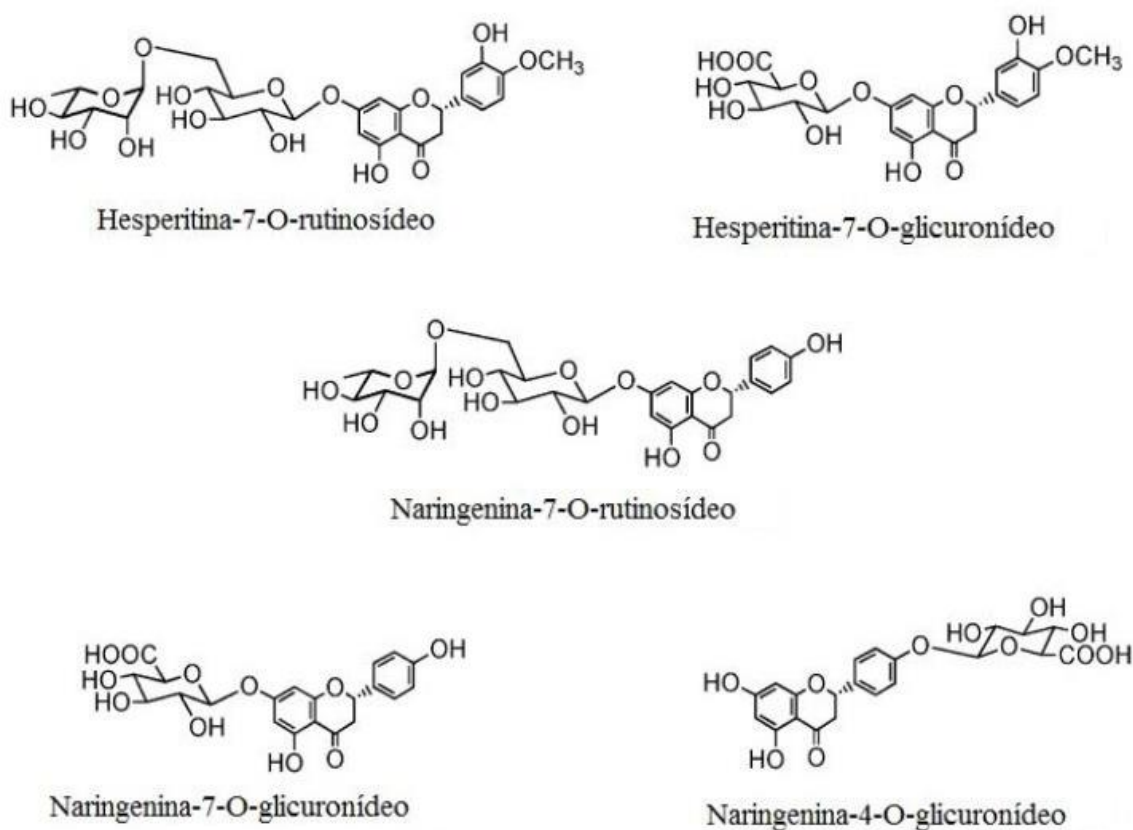


Figura 3. Estruturas glicosiladas das flavanonas⁽⁵⁰⁾

A composição das flavanonas na laranja varia de acordo com a parte do fruto, sendo que as partes sólidas da fruta, como o albedo (parte branca) e as membranas que separam os segmentos, são os mais ricos em flavanonas, em comparação com as vesículas de suco (polpa). Além disso, os estágios de maturidade e pós-colheita também afeta os níveis de flavonoides cítricos⁽⁵⁰⁻⁵²⁾.

Metabolismo e Biodisponibilidade das Flavanonas

A garantia da eficácia biológica das flavanonas depende de serem absorvidas e metabolizadas, e terem os metabólitos bioativos distribuídos aos tecidos sensíveis à sua ação⁽⁵³⁾. Do ponto de vista nutricional, a biodisponibilidade representa os efeitos gerais da absorção, distribuição, metabolismo e excreção de um nutriente presente nos alimentos⁽⁵²⁾.

As flavanonas são resistentes ao suco gástrico do estômago, sendo absorvidas no trato gastrointestinal após extensiva metabolização por enzimas intestinais e hepáticas e deglicosilação por enzimas de bactérias intestinais, desde o intestino delgado e terminando no intestino grosso^(39,54,55). Além disso, alguns fatores podem interferir na absorção das flavanonas, entre os quais está a composição química, pois a molécula de glicose é um dos principais determinantes do local de absorção e da biodisponibilidade dos flavonoides, sendo reconhecido que a biodisponibilidade dos monoglicosídeos de flavonoides é muito maior do que os rutinosídeos⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. Este comportamento se deve ao intestino delgado humano conter β -glicosidases capazes de hidrolisar glicosídeos de flavanonas, mas não rutinosídeos (ramnoglicósidos), que precisam alcançar o cólon e serem expostos a α -ramnosidase provenientes de algumas das bactérias residentes⁽⁵⁹⁾.

Primeiramente, após a ingestão do suco de laranja, por exemplo, os monoglicosídeos de flavanonas são absorvidos no intestino delgado após hidrólise pela lactase-florizina hidrolase, e então, a aglicona livre, por ser hidrofóbica, difunde-se através das células epiteliais por transporte passivo ou por difusão facilitada^(60,61). Porém, algumas flavanonas conjugadas à glicose podem ser absorvidas através do transportador de glicose sódio dependente

(SGLT1) para o interior do enterócito e deglicosiladas pelas β -glicosidases presentes intracelularmente. Ambas as vias de absorção originam agliconas intracelulares que, posteriormente, são metabolizadas em conjugados glicurônicos ou sulfatados e liberados na corrente sanguínea^(58,60). Entretanto, a maior parte dos glicosídeos não são hidrolisados ou não apresentam afinidade pela SGLT1, tais como os rutinosídeos. Estes são transportados na forma intacta em direção ao cólon, onde são hidrolisados pela α -ramnosidase, produzida pela microbiota do local, liberando a forma aglicona, que pode então ser absorvida pelo intestino^(28,58,61,62).

No intestino delgado e no epitélio do cólon, os flavonoides poderão sofrer reações de conjugação, como a glicuronidação e a metilação^(28,63,64). Uma vez absorvidas, as flavanonas são conduzidas ao fígado pela circulação entero-hepática ligadas à albumina ou via linfática, onde sofrerão outras biotransformações envolvendo reações de fase I (oxidação, redução, hidrólise) e, principalmente, reações de fase II (metilação, sulfatação e glicuronidação), formando metabólitos com ácidos glicurônicos através da UDP-glicuronosiltransferases (UGTs) e grupos sulfatos por meio das sulfotransferases (SULTs)^(28,38,63). A glicuronidação e a sulfatação são especialmente importantes porque aumentam substancialmente o peso molecular e a solubilidade do composto original para que possa ser eliminado através da urina ou da bile^(24,65-60).

Por fim, esses metabólitos conjugados aos glicuronídeos e sulfoglicuronídeos tanto irão para a corrente sanguínea e exercer a função sistêmica, quanto serão excretados pela bile e/ou urina, dependendo do metabólito formado (Figura 4)^(28,69). Os compostos não absorvidos, bem como

aqueles excretados juntamente com a bile no lúmen intestinal, seguem para o cólon onde serão catabolizados pela microbiota, produzindo uma variedade de compostos fenólicos de baixo peso molecular⁽⁷⁰⁻⁷²⁾.

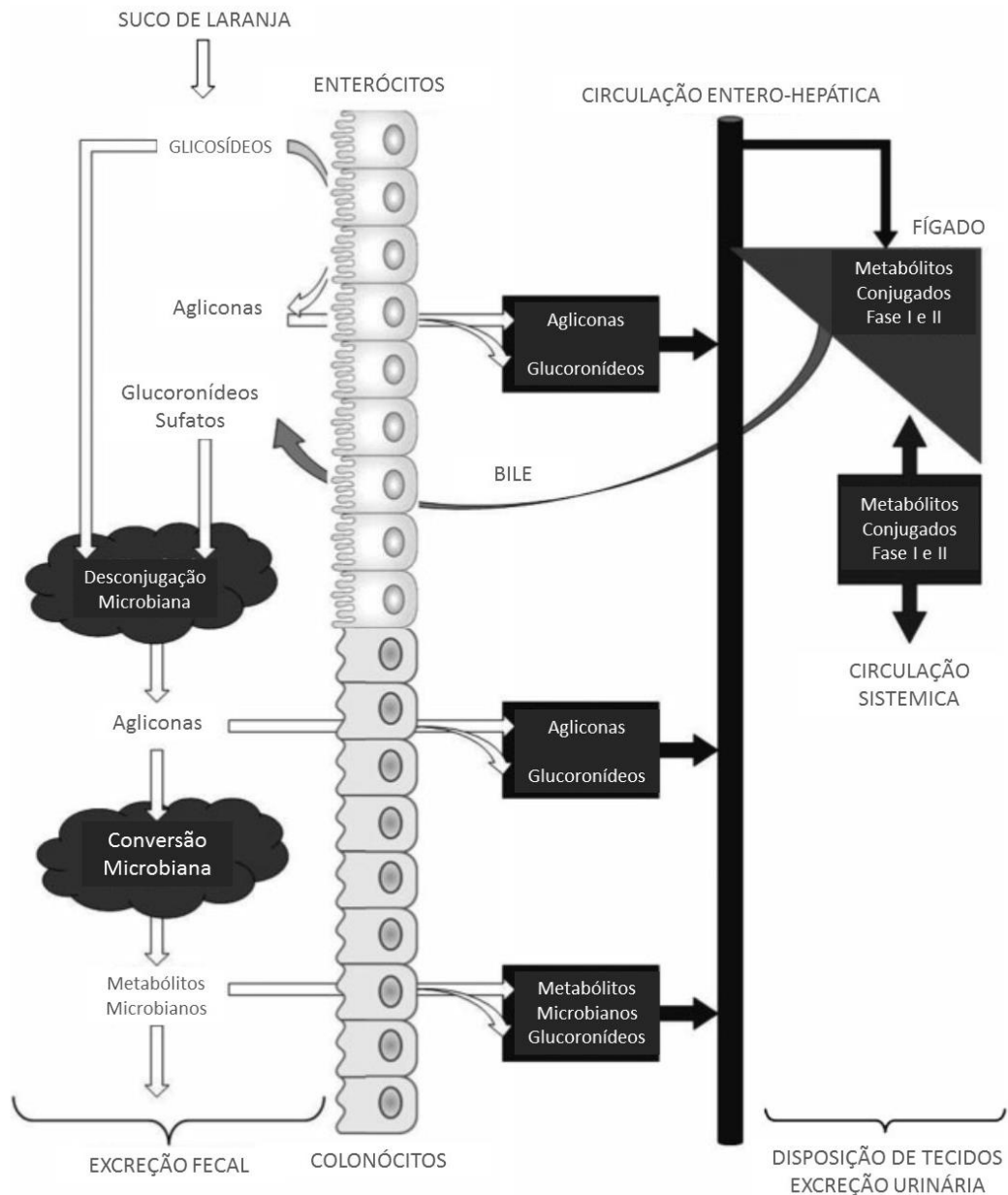


Figura 4. Metabolismo das flavanonas adaptado⁽²⁸⁾

Devido a via de absorção distinta das flavanonas, a meia vida desses compostos também é diferente. A concentração sanguínea máxima dos compostos produzidos no cólon tem sido captada em média 6 h após a ingestão do suco de laranja^(58,69,73). Em contraste, os compostos absorvidos no intestino delgado, local onde a absorção ocorre mais rapidamente, a meia vida é de aproximadamente 1 h⁽⁵⁸⁾. A excreção urinária das flavanonas ocorre principalmente durante as 24 h após a ingestão com um pico entre 6 a 12 h. Estudos anteriores sugerem, no entanto, que é suficiente a coleta de urina em um único dia, porque a variação diária no nível individual é limitada⁽⁷⁴⁾. Após o consumo de suco de laranja, a excreção relativa urinária de hesperitina pode variar de 1,7 até 8,1%^(50,59,70,73,75-79). A excreção de naringenina após o consumo de suco de laranja é encontrada entre 0,7 até 20,3% da ingestão^(50,59,70,73,75-79). A excreção fecal das flavanonas é bem citada em estudos experimentais e *in vitro*. Parte das flavanonas são excretadas na forma inalterada, sendo estimado 33% para hesperitina e 15% para hesperidina. Além disso, também é encontrado nas fezes a naringina, naringenina e naringenina glicuronídeo. Adicionalmente, nas fezes humanas, devido a extensa metabolização da microbiota, são encontrados os catabólitos fenólicos capazes de elevar a recuperação das flavanonas a 100%^(70,71,78,80).

Laranja e Suco de Laranja

A laranja é uma das frutas mais cultivadas em todo o mundo, produzida pela laranjeira (*Citrus x sinensis*), uma árvore da família Rutaceae de porte médio e copa densa, arredondada e perene. Essencialmente, a laranja é composta por diversas vesículas de suco protegidas por uma película de cera,

a casca (Figura 5). É na casca (flavedo) que estão as substâncias responsáveis pelo aroma e pela cor da fruta. Já a parte comestível é composta por segmentos que possuem vesículas de suco e pela parte sólida que é fonte de fibras e compostos bioativos (membranas e albedo), além de sementes^(81,82). Existem mais de 100 variedades de laranjas cultivadas pelo mundo. No Brasil, as mais comuns são as laranjas Bahia, Pêra, Rubi e Valência⁽⁸¹⁾.

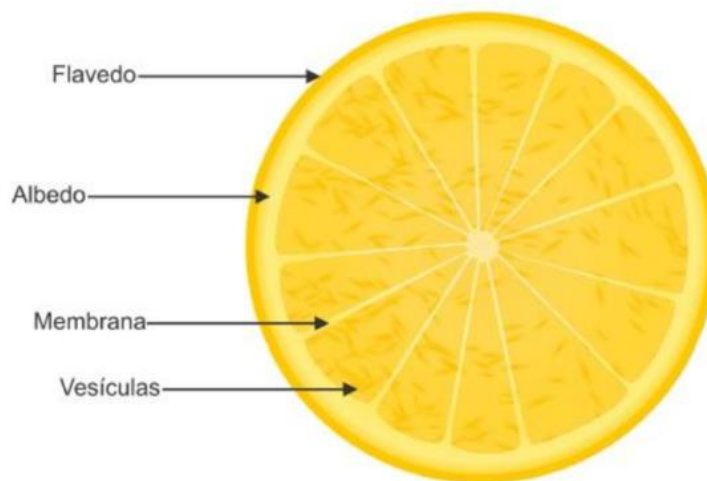


Figura 5. Partes que compõem a laranja⁽⁸²⁾

Originada na Ásia, provavelmente na China, por volta de 4.000 anos, a laranja foi trazida para as Américas pelos exploradores no final dos anos 1400 e início de 1500. No Brasil, as mudas de laranjeiras foram introduzidas durante o período da colonização e com o tempo, a citricultura destacou-se em vários estados. Posteriormente, em Araraquara no ano de 1950, estendendo-se ao norte e noroeste do Estado de São Paulo⁽⁸³⁾.

Atualmente, o país responde por 34% da laranja e 56% do suco produzido em todo o mundo, considerando a média das últimas cinco safras, sendo 97% dessa produção destinada à exportação. Ainda, o Brasil é responsável por 76% de participação no comércio mundial de suco de laranja, consolidando-se como o mais importante fornecedor global desse produto⁽⁸⁴⁾. Entretanto o consumo de laranja no Brasil, identificado pela POF 2008-2009⁽⁸⁵⁾, é bem menos que uma laranja por dia. Enquanto uma laranja média tem 180 g⁽⁸⁶⁾, o consumo médio encontrado foi de 20 g/d⁽⁸⁵⁾. Em adição, o consumo de suco de laranja no Brasil, saiu de 42 mil toneladas de Suco Concentrado Congelado (FCOJ, sigla em inglês), equivalente a 66° Brix em 2003, para 69 mil toneladas em 2016⁽⁸⁴⁾. Porém, nosso consumo ainda é baixo se comparado, por exemplo, com os Estados Unidos, que apresentou um consumo de 624 mil toneladas de FCOJ equivalente a 66° Brix em 2016⁽⁸⁴⁾.

Na fabricação do suco de laranja existem diferentes processos de extração e processamento do suco, e estes influenciam na concentração dos nutrientes e nas quantidades dos flavonoides^(51,75). Entre os sucos de laranja prontos para o consumo encontra-se o NFC, do termo inglês “non-frozen concentrated”. É um suco pasteurizado que não passou pelo processo de concentração ou diluição durante a produção, e ainda, não é acrescido de açúcares. Além disso, em termos de sabor é o que mais se assemelha ao suco fresco, segundo o consumidor brasileiro⁽⁸¹⁾.

O suco de laranja fresco apresenta maiores quantidades de vitamina C e ácido fólico, aproximadamente 125 mg e 76 µg, respectivamente, enquanto que os sucos pasteurizados apresentaram 86 mg de vitamina C e 46 µg de folato. Por outro lado, os sucos integrais e industrialmente pasteurizados apresentam

aproximadamente o dobro da quantidade de flavonoides cítricos quando comparados ao suco fresco⁽⁵¹⁾. Isso porque, no processo de extração do suco, são usadas também as partes sólidas das laranjas, tendo maior aproveitamento do fruto⁽⁸¹⁾.

Efeitos Benéficos do Suco de Laranja

Estudos anteriores de suplementação com suco de laranja, ou com flavanonas na forma isolada, tem demonstrado várias propriedades de proteção à saúde. As ações são relatadas como: antioxidantes, hipolipidêmicas, anti-hipertensivas e anti-inflamatórias⁽⁸⁷⁻⁹¹⁾.

Estudo *crossover* com 16 indivíduos (homens e mulheres) mostrou que placebo com hesperidina e suco de laranja, aumentou significativamente a capacidade antioxidante no soro sanguíneo. Evidenciando que os compostos fenólicos da laranja contribuem diretamente para a proteção oxidativa pós-prandial, que é um importante contribuinte para o desenvolvimento de doenças crônicas⁽⁸⁸⁾.

Pesquisa que comparou o perfil lipídico de homens e mulheres que consumiam suco de laranja por pelo menos 12 meses a indivíduos não consumidores, encontrou concentrações de colesterol total, LDL-c, ApoB e a razão LDL/HDL significativamente menores nos consumidores de suco de laranja do que nos indivíduos não consumidores. Concluindo, que o consumo de suco de laranja ao longo tempo está associado a baixos fatores de risco para doença cardiovascular⁽⁸⁷⁾. Além disso, um estudo com consumo menor (4 semanas) em homens de meia-idade e com excesso de peso, evidenciou a diminuição da pressão arterial diastólica⁽⁸⁹⁾.

Outro estudo demonstrou que o consumo oral diário durante três semanas de hesperidina melhora a função endotelial, reduz a circulação de biomarcadores da inflamação e altera favoravelmente o perfil lipídico em indivíduos com síndrome metabólica, mostrando o efeito anti-inflamatório da hesperidina isolada⁽⁹⁰⁾.

Pacientes com hepatite C sob terapia antiviral que beberam 500 mL de suco de laranja diariamente por 8 semanas tiveram uma melhora da capacidade antioxidante, perfil lipídico, marcadores inflamatórios do fígado e nível de aspartato transaminases, quando comparados aos pacientes nas mesmas condições, mas que não consumiam suco de laranja. Os resultados indicam que o suco de laranja é um alimento adequado para pacientes com hepatite C crônica, com a vantagem da falta de toxicidade e alta oferta de antioxidante dietético⁽⁹¹⁾.

Interações entre Suco de Laranja e Microbiota Intestinal

Evidências de estudos em humanos tem mostrado que alguns compostos fenólicos podem contribuir para a manutenção da saúde intestinal, preservando o equilíbrio microbiano através da estimulação do crescimento de bactérias benéficas e inibição de bactérias patogênicas, exercendo efeitos prebióticos^(28,29,92).

Estudo *in vitro* mostrou o potencial envolvimento da microbiota colônica na biodisponibilidade global dos flavonoides do suco de laranja. Foi observado aumento na quantidade de catabólitos através da produção de ácidos fenilpropionícos e subseqüentes conversões hepáticas que levam ao ácido hipúrico e os análogos hidroxilados⁽⁹³⁾. Além disso, já foi demonstrado

o potencial enzimático de *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus rhamnosus*. Ambas podem estar envolvidas no catabolismo do cólon das flavononas presente no suco de laranja⁽⁹⁴⁾. Ainda, estudo *in vitro*, demonstrou em Simulador do Ecossistema Microbiano Intestinal Humano (SHIME®) que o suco de laranja teve influência positiva na microbiota humana, sugerindo um efeito prebiótico seletivo deste alimento na mucosa intestinal⁽⁹⁵⁾.

Estudo *in vivo* identificou metabólitos da naringina na urina e fezes de ratos e cachorros, além da identificação de ácidos graxos de cadeia curta decorrente da biotransformação da naringina⁽⁹⁶⁾. Após suplementação de hesperitina em ratos foi identificado aumento da excreção de ácidos graxos de cadeia curta, além da diminuição da proporção de *Clostridium* XIVa nas fezes⁽⁷²⁾.

Em humanos, estudo examinou os efeitos de suplementação da *Bifidobacterium longum*, administrada por via oral e biodisponibilidade de flavanonas. A suplementação do probiótico mostrou efeito positivo, aumentando a biodisponibilidade de flavanonas do suco de laranja⁽⁹⁷⁾. Um ensaio clínico recente, com mulheres que consumiram suco de laranja por dois meses, apresentou melhorou do colesterol, da glicose e da sensibilidade à insulina. Além disso, foi observada uma modulação positiva na composição da microbiota e na atividade metabólica, com o aumento de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp e produção de ácido graxos de cadeia curta⁽⁹⁸⁾.

Entretanto, as informações disponíveis ainda são limitadas sobre quanto os componentes dietéticos do suco de laranja, podem influenciar a microbiota intestinal. Até o momento, poucos estudos se concentraram nas interações entre ingestão do suco de laranja e microbiota.

Dado estas evidências, formulou-se a hipótese de que o consumo de suco de laranja pode melhorar a colonização microbiana, modulando-a benéficamente, além de controlar parâmetros antropométricos e bioquímicos. Com isso, este estudo teve o objetivo de explorar a associação entre a ingestão diária de suco de laranja e microbiota intestinal. Para isso foi avaliado a composição da microbiota intestinal, recuperação urinária das flavanonas e parâmetros nutricionais e bioquímicos, após 60 dias de consumo de suco de laranja em mulheres.

Considerações Finais

O consumo de 60 dias seguidos de suco de suco de laranja apresentou efeito prebiótico, modulando positivamente a microbiota intestinal. Além de promover uma ação benéfica no controle do perfil glicêmico e lipídico de mulheres.

REFERÊNCIAS

1. Sender R, Funchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *Plos Biol.* 2016; 14(8): e1002533.
2. Cuervo A, Valdés L, Salazar N, de los Reyes-Gavilán CG, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, González S. Pilot study of diet an microbiota: interactive associations of fibers and polyphenols with human intestinal bacteria. *J Agric Food Chem.* 2014; 62: 5330-6.
3. Guarner F, Malagelada, JR. Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003; (361): 512-9.
4. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Pediatr.* 2003; (441): 48-55.
5. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res.* 2013; 69(1): 52–60.
6. Walsh CJ, Guinane CM, O'Toole PW, Cotter PD. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Letters.* 2014; 588: 4120-30.
7. Barbosa FHF, Martins FSM, Barbosa LPJL, Nicoli JR. Microbiota indígena do trato gastrointestinal. *Rev Biol Ciência Terra.* 2010; 10(1): 78-93.
8. Schippa S, Conte MP. Dysbiotic events in gut microbiota: impacto on human health. *Nutrients.* 2014; 6: 5786-805.
9. D'Argenio V, Salvatore F. The role of the gut microbiome in the healthy adult status. *Clin Chim Acta.* 2015; xxx(2014): 6p.
10. Ihekweazu FD, Versalovic J. Development oh the pediatric gut microbiome: impacto on health and disease. *Am J Med Sci.* 2018; 356(5): 413-23.
11. Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. The human microbiome and child growth – first 1000 days and beyond. *Trends Microb.* 2019; 27(2): 17p.
12. Tojo R, Suárez A, Clemente MG, de los Reyes-Gavilán CG, Margolles A, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(41): 15163-76.
13. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108 Suppl 1: 4586-91.
14. Salazar N, López P, Valdés L, Margolles A, Suárez A, Patterson AM, et al. Microbial targets for the development of functional foods accordingly with nutritional and immune parameters altered in the elderly. *J Am Coll Nutr.* 2013; 32: 399-406.
15. Hollister EB, Riehle K, Luna RA, Weidler EM, Rubio-Gonzales M, Mistretta T-A, et al. Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome.* 2015; 3: 36p.

16. Ringel-Kulka T, Cheng J, Ringel Y, Salojärvi J, Carroll I, Palva A, et al. Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults - a high throughput microarray analysis. *PLoS One*. 2013; 8(5), e64315p.
17. Agans R, Rigsbee L, Kenche H, Michail S, Khamis HJ, Paliy O. Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults. *FEMS Microbiol Ecol*. 2011; 77(2): 404-12.
18. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*. 2001; 11(1-2): 1-17.
19. Saad SMI. Probiotics and prebiotics: the state of the art. *Rev Bras Ciências Farm*. 2006; 42(1): 1-16.
20. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, De los Reyes-Gavilán CG, Salazar N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1-9.
21. Almeida LB, Marinho CB, Souza CS, Cheib VBP. Disbiose intestinal. *Rev Bras Nutr Clín*. 2009; 24(1): 58-65.
22. Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic Immunomodulation in Health and Disease. 2000; 130(2): 4035-4095.
23. Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes Nutr*. 2011; 6: 209-240.
24. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011; 334(6052): 105-108.
25. Glenn R, Marcel B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutrition*. 1995; 125: 1401-1412.
26. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14: 491-502.
27. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resident starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol Rev*. 2001; (81)3: 4350-4.
28. Kemperman RA, Bolca S, Roger LC, Vaughan EE. Novel approaches for analyzing gut microbes and dietary polyphenols challenges and opportunities. *Microbiology*. 2010; 156: 3224-122.
29. Kemperman RA, Gross G, Mondot S, Possemiers S, Marzorati M, Van de Wiele T, et al. Impact of polyphenols from black tea and red wine/grape juice on a gut model microbiome. *Food Res Int*. 2013; 53(2): 659-669.
30. Clifford MN. Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implications for health. *Planta Med*. 2004; 70: 1103-14.
31. Dueñas M, Cueva C, Muñoz-González I, Jiménez-Girón A, Sánchez-Patán F, Santos-Buelga, C, et al. Studies on modulation of gut microbiota by wine polyphenols: from isolated cultures to omic approaches. *Antioxidants*. 2015; 4(1): 1-21.

32. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995; 125(6): 1401-12.
33. Akanji AO, Hockday TD. Acetate tolerance and the kinetics of acetate utilization in diabetic and nondiabetic subject. *Am J Clin Nutr.* 1990; 273(18): 11012-6.
34. Cook SI, Sellin JH. Review article: short chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998; 12(6): 499-507.
35. Montalto M, D'Onofrio F, Gallo A, Cazzato A, Gasbarrini G. Intestinal microbiota and its functions. *Digestive and Liver Disease Supplements.* 2009; 3(2): 30-4.
36. Wolever TM, Spadafora P, Eshuis H. Interaction between colonic acetate and propionate in human. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53(3): 681-7.
37. Rio DD, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2013; 18(14): 1818-92.
38. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Amer J Clin Nutr.* 2004; 79: 727-47.
39. Kanaze FI, Bounartzi MI, Georgarakis M, Niopas I. Pharmacokinetics of the citrus flavanone aglycones hesperetin and naringenin after single oral administration in human subjects. *Eur J Clin Nutr.* 2007; (61): 472-7.
40. Lopes RM, Oliveira TD, Nagem TJ, Pinto ADS. Flavonoides. *Biot Cien Desenv.* 2010; 3(14): 18-22.
41. Hyson DA. A review and critical analysis of the scientific literature related to 100% fruit juice and human health. *Adv Nutr.* 2015; 6(1): 37-51.
42. Pérez-Jiménez J, Fezeu L, Touvier M, Arnault N, Manach C, Hercberg S, et al. Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. *Amer J Clin Nutr.* 2011; 93: 1220-8.
43. Chanut A, Milenkovic D, Manach C, Mazur A, Morand C. Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection? *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 8809-22.
44. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* 1999; 65(4): 337-53.
45. Tripoli E, Guardia ML, Giammanco S, Majo DD, Giammanco M. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry.* 2007; 104: 466–79.
46. D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità.* 2017; 43(4): 348-61.

47. Rodrigues da Silva L, Martins LV, Calou IBF, Meireles de Deus MS, Ferreira PMP, Peron AP. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta Toxicol Argent.* 2015; 23(1): 36-43.
48. Berhow MA. Flavonoid accumulation in tissue and cell culture. *Studies in Citrus and other plant species.* *Adv Exper Med Biol.* 1998; 439: 67-84.
49. Leuzzi U, Caristi C, Panzera V, Licandro G. Flavonoids in pigmented orange juice and second-pressure extracts. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 5501-6.
50. Mullen W, Archeveque M-A, Edwards CA, Matsumoto H, Crozier A. Bioavailability and metabolism of orange juice flavanones in humans: impact of a full-fat yogurt. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56: 11157-64.
51. Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F. Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidants and beneficial health compounds. *Journal of J. Agric. Food Chem.* 2001; 28:50(18); 5107-14.
52. Yi L, Ma S, Ren D. Phytochemistry and bioactivity of Citrus flavonoids: a focus on antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and cardiovascular protection activities. *Phytochem Rev.* 2017; 16: 479-511.
53. Charron CS, Clevidence BA, Britz SJ, Novotny JA. Effect of dose size on bioavailability of acylated and nonacylated anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea* L. Var. capitata). *J Agric Food Chem.* 2007; 55(13): 5354-62.
54. Hollman PCH, Katan MB. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed. Pharmacother.* 1997; 51(51): 305-10.
55. Kurowska EM, Spence JD, Jordan J, Wetmore S, Freeman DJ, Piché LA, et al. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(5): 1095-100.
56. Hollman PCH, Bijlsman MN Van Gameren Y, Cnossen EP, De Vries JH, Katan MB. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research.* 1999; 31: 569–73.
57. Manach C, Williamson G, Morand C, Scabert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Amer J Clin Nutr.* 2005; 81: 230S– 42S.
58. Nielsen IL, Chee WS, Poulsen L, Offord-Cavin E, Rasmussen SE, Frederiksen H, et al. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial. *J Nut.* 2006; 136(2): 404-8.
59. Brett GM, Hollands W, Needs PW, Teucher B, Dainty JR, Davis BD, et al. Absorption, metabolism and excretion of flavanones from single portions of orange fruit and effects of anthropometric variables and contraceptive pill use on flavanone excretion. *Br J Nutr.* 2009; 101(5): 664-75.
60. Day AJ, Gee JM, Dupont MS, Johnson IT, Williamson G. Absorption of quercetin-3-glucoside and quercetin-49-glucoside in the rat small intestine:

the role of lactase phlorizin hydrolase and the sodium-dependent glucose transporter. *Bioch Pharm.* 2003; 65: 1199-206.

61. Marín L, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 18p.
62. Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of Citrus juices. *Molecules.* 2007; 12: 1641-73.
63. Spencer JPE, Chowrimootoo G, Choudhury R, Debnam ES, Srai SK, Rice-Evans C. The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS Letters.* 1999; 458: 224-30.
64. Brand W, Van Der Wel PAI, Rein MJ, Barron D, Williamson G, Van Bladeren PJ, Rietjens IMCM. Metabolism and transport of the citrus flavonoid hesperetin in Caco-2 cell monolayers. *Drug Metab Disp.* 2008; 36: 1794-802.
65. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. 2005; 81(1Suppl): 243S-55S.
66. Cermak R. Effect of dietary flavonoids on pathways involved in drug metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008; 4(1): 17-35.
67. Singh R. Relationship between flavonoid structure and phase-II metabolism. [Tese de doutorado]. Houston: College of Pharmacy, The University of Houston; 2010. 401p.
68. Xiao J, Högger P. Metabolism of dietary flavonoids in liver microsomes. *Curr Drug Metab.* 2013; 14(4): 381-91.
69. Bredsdorff L, Nielsen ELF, Rasmussen SE, Cornett C, Barron D, Bouisset F, et al. Absorption, conjugation and excretion of the flavanones, naringenin and hesperetin from α -rhamnosidase-treated orange juice in human subjects. *Brit. J. Nutr.* 2010; 103: 1602-9.
70. Vallejo F, Larrosa M, Escudero E, Zafrilla MP, Cerdá B, Boza J, et al. Concentration and solubility of flavanones in orange beverages affect their bioavailability in humans. *J Agric Food Chem.* 2010; 58: 6516-24.
71. Pererira-Caro G, Borges G, van der Hooft D, Clifford MN, Del Rio D, Lean MEJ, et al. Orange juice (poly)phenols are highly bioavailable in humans. *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 1378-84.
72. Unno T, Hisada T, Takahashi S. Hesperetin modifies the composition of fecal microbiota and increases cecal levels of short-chain fatty acids in rats. *J Agri. Food Chem.* 2015; 63: 7952-7.
73. Erlund I, Meririnne E, Alfthan G, Aro A. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *J Nut.* 2001; 131(2): 235-41.
74. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandström B, Dragsted LO. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69: 87-94.

75. Tomás-Navarro M, Vallejo F, Sentandreu E, Navarro JL, Tomás-Barberán FA. Volunteer stratification is more relevant than technological treatment in orange juice flavanone bioavailability. *Journal of J. Agric. Food Chem.* 2014; 62: 24-7.
76. Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, Bouteloup-Demange C, Rémésy C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *Eur J Clin Nutr.* 2003; 57: 235-42.
77. Silveira JQ, Cesar TB, Manthey JA, Baldwin EA, Bai J, Raithore S. Pharmacokinetics of flavanone glycosides after ingestion of single doses of fresh-squeezed orange juice versus commercially processed orange juice in healthy humans. *J. Agric. Food Chem.* 2014; 62: 12576-84.
78. Aschoff JK, Riedl KM, Cooperstone JL, Högel J, Bosy-Wesptphal A, Schwartz SJ, et al. Urinary excretion of citrus flavanones and their major catabolites after consumption of fresh oranges and pasteurized orange juice – a randomized cross-over study. *Mol Nutr Food Res.* 2016; 1-18.
79. Pereira-Caro G, Plyviou T, Ludwig IA, Nastase AM, Moreno-Rojas JM, Garcia AL, et al. Bioavailability of orange juice (poly)phenols: the impact of short-term cessation of training by male endurance athletes. *Am J Clin Nutr.* 2017: 1-10.
80. Actis-Goretta L, Dew TP, Lévêques A, Pereira-Caro G, Rein M, Teml A, et al. Gastrointestinal absorption and metabolism of hesperetin-7-O-rutinoside and hesperetin-7-O-glucoside in healthy humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 2015; 59: 1651-62.
81. CitrusBR, Associação Nacional dos Exportadores de Sucos e Cítricos. Disponível em: <http://www.citrusbr.com.br/>. Acesso em: 10 setembro, 2018.
82. Fernandes IJ, Kieling AG, Brehm FA, Agosti A, Moraes CAM. Avaliação da extração de óleo essencial do resíduo casca de laranja. In: 4. Fórum Internacional de Resíduos Sólidos; 2013; Porto Alegre; 2013.
83. Neves MF, Trombin VG, Milan P, Lopes FF, Cressoni F, Kalaki R. O retrato da citricultura brasileira, São Paulo: CitrusBR. 2011: 138p.
84. Neves MF, Trombin VG. Anuário da citricultura 2017, São Paulo: CitrusBR. 2017: 60p.
85. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. IBGE. 2011; 150p.
86. Pinheiro ABV, Lacerda EMA, Benzecry EH, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 5ª ed. Atheneu. 2005; 131p.
87. Aptekmann NP, Cesar TB. Long-term orange juice consumption is associated with low LDL-cholesterol and apolipoprotein B in normal and moderately hypercholesterolemic subjects. *Lipids Health Dis.* 2013; 12: 119p.

88. Snyder SM, Reber JD, Freeman BL, Orgad K, Eggett DL, Parker TL. Controlling for sugar and ascorbic acid, a mixture of flavonoids matching navel oranges significantly increases human postprandial serum antioxidant capacity. *Nutrition Research*. 2011; 31(7): 519-26.
89. Morand C, Dubray C, Milenkoic D, Lioger D, Martin JF, Scalert A, Mazur A. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Amer J Clin Nutr*. 2011; 93(1): 73-80.
90. Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim J, Chen H, Pullikotil P, et al. Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while Improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endoc Metab*. 2011; 96(5): E782–E792.
91. Gonçalves D, Lima C, Ferreira P, Costa P, Costa A, Figueiredo W, Cesar T. Orange juice as dietary source of antioxidants for patients with hepatitis C under antiviral therapy, *Food Nutr Research*. 2017; 61(1): 10p.
92. Wan MLY, Ling KH, El-Nezami H, Wang MF. Influence of functional food componentes on gut health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018: 11p.
93. Pereira-Caro G, Borges G, Ky I, Ribas A, Clani L, Del Rio D, et al. In vitro colonic catabolismo f orange juice (poly)phenols. *Mol Nutr Food Res*. 2015; 59(3): 465-75.
94. Pereira-Caro G, Fernández-Quirós B, Ludwig IA, Pradas I, Crozier A, Moreno_Rojas JM. Catabolism of citrus flavanones by the probiotics *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Eur J Nutr*. 2016: 12p.
95. Duque ALRF, Monteiro M, Adorno MAT, Sakamoto IK, Sivieri K. An exploratory study on the influence of orange juice on gut microbiota using a dynamic colonic model. *Food Res Int*. 2016; 84:160–9.
96. Liu M, Zoua W, Yanga C, Penga W, Sua W. Metabolism and excretion studies of oral administered naringin, a putative antitussive, in rats and dogs. *Biopharm Drug Dispos*. 2012; 33: 123–34.
97. Pereira-Caro G, Oliver CM, Weerakkody R, Singh T, Conlon M, Borges G, Sanguansri L, Lockett T, Roberts AS, Crozier A, Augustin MA. Chronic administration of a microencapsulated probiotc enhances the bioavailability of orange juice flavanones in humans. *Free Radic Biol Med*. 2015; 84(2015): 206-14.
98. Lima ACD, Cecatti C, Fidélix MP, Tallarico MA, Sakamoto I, Cesar TB, Sivieri K. Effect of daily consumption of orange juice on the levels of blood glucose, lipds and gut microbiota metabolites: controlled clinical trials. *J Med Food*. 2019; 00(0):1-9.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____, RG _____,
Estado Civil _____, Idade _____ anos,
Residente na _____, nº
_____, Bairro _____, Cidade _____, Telefone _____.

Declaro ter sido esclarecido sobre os seguintes pontos:

1. O trabalho “Influência do efeito prebiótico do suco de laranja na biodisponibilidade das flavanonas após ingestão crônica de suco de laranja” tem por finalidade investigar a biodisponibilidade das flavanonas (compostos bioativos) e seus metabólitos nas fezes, sangue e urina, após a ingestão crônica do suco de laranja;
2. Ao participar desse trabalho ajudarei na identificação de um alimento altamente acessível com efeito prebiótico;
3. Doarei para a realização dessa pesquisa, os seguintes materiais biológicos: sangue, urina e fezes. Será coletado 30 mL de sangue depois de jejum de 12 horas e depois de 2, 4, 8, 24 horas. Isso se repetirá 5 vezes durante o projeto, com intervalo de 30 dias. A coleta de todas as amostras será realizada no Laboratório de Análises Clínicas São Lucas de Araraquara. A urina de 24 horas será coletada, na véspera do início do experimento e a cada 30 dias até a data final. Será fornecido aos voluntários recipientes apropriados para coleta. As fezes totais das últimas 24 horas serão coletadas na véspera do início do experimento e a cada 30 dias até a data final. Será fornecido aos voluntários recipiente apropriado para coleta. Todos os materiais serão utilizados exclusivamente para essa pesquisa, não podendo ser reutilizado em pesquisa posterior;
4. A minha participação como voluntário terá a duração de 120 dias (4 meses);
5. Ao participar dessa pesquisa poderei ter o incomôdo das coletas de sangue. As coletas de urina e fezes não são invasivas e podem causar algum desconforto;
6. Todas as vezes que houver necessidade de retorno, voltarei ao Laboratório de Análises Clínicas São Lucas de Araraquara para coletas de sangue e no

Laboratório de Nutrição (FCFAR – UNESP- Araraquara) para entrega da urina e fezes e retirada do suco;

7. Não terei nenhuma despesa com os exames ou para receber o suco ao participar desse estudo. Receberei lanches e almoço no dia da coleta de sangue e serei ressarcida com o valor do transporte até o laboratório;
8. Meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, serei informado sobre os resultados dessa pesquisa (pela instituição ou profissional competente);
9. Estou ciente de que o material a ser doado será utilizado exclusivamente nesta pesquisa, não podendo ser armazenado para uso posterior sem o meu consentimento;
10. Poderei me recusar a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização dessa pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização (isto é, sem interrupção do meu tratamento, quando for o caso);
11. Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, poderei entrar em contato com a equipe científica do projeto: pesquisadora Melaine Priscila Fidélis pelo telefone (0XX16) 3301-6766/99660-9322 no Laboratório de Nutrição da FCFar – UNESP Araraquara;
12. Para notificação de qualquer situação, relacionada com a ética, que não puder ser resolvida pelos pesquisadores deverei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, pelo telefone (0XX16) 3301-6897;
13. Este documento será assinado em duas vias, na qual serei portador de uma via e a outra ficará com o pesquisador.

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar, como voluntária(o), do estudo “Influência do efeito prebiótico do suco de laranja na biodisponibilidade das flavanonas após ingestão crônica de suco de laranja”.

Araraquara, _____

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B - Questionário de seleção

Data: ____/____/____

Nome: _____
Telefone: _____ celular: _____ Sexo: M () F ()
Profissão: _____ DN ____/____/____ Idade: _____
e-mail: _____

I-Antropometria

Peso : _____ Altura _____ IMC _____

Obs _____

II- História Clínica

1 – Você tem ou teve alguma destas doenças citadas abaixo:

- ☐ Ataque cardíaco
- ☐ Derrame
- ☐ Diabetes
- ☐ Hipertensão
- ☐ Câncer
- ☐ Outras: _____

2- Alguém da sua família (pai, mãe, irmãos, avós) já teve algumas destas doenças abaixo:

- ☐ Ataque cardíaco ☐ Hipertensão
- ☐ Derrame ☐ Câncer
- ☐ Diabetes
- ☐ Outras: _____

3 – Você está atualmente grávida ou amamentando?

- ☐ Não
- ☐ Sim (grávida) ☐ Sim (amamentando)

4 - Você faz uso de algum remédio?

- ☐ Não
- ☐ Sim. Qual (s): _____

5 - Você fez uso de algum antibiótico nos últimos 6 meses?

- ☐ Não
- ☐ Sim. Qual (s): _____

6 – Você fuma ?

- ☐ Não
 - ☐ Sim. Qual (s): _____
- Quantos cigarros (ou outro tipo de fumo) por dia? _____

7 – Você consome álcool?

☐ Não
☐ Sim. Qual (s): _____
Quantidade por semana: _____

8 - Como é o seu funcionamento intestinal?

☐ regular ☐ irregular
Quantidade por dia/semana: _____

II – Informações Dietéticas

8 – Quantos copos de água você bebe diariamente?

9 – Você está atualmente seguindo alguma dieta?

☐ Não
☐ Sim. Qual tipo: _____
☐ prescrita por profissional de nutrição ou médico
☐ prescrita por você mesmo

10 – Você utiliza alguma forma de suplemento alimentar? (ex: vitaminas, minerais, proteínas, etc.)

☐ Não
☐ Sim. Qual (s):

11 – Você utiliza ou utilizou probiótico ou prebiótico nos últimos 3 meses?

☐ Não
☐ Sim. Qual (s):

12- Outras observações importantes sobre sua alimentação.

APÊNDICE C - Modelo do registro alimentar

Dia [1] [2] [3] – Registro Alimentar 24h

Data: ____/____/____

Dia semana: _____

Nome: _____

HORARIO/LOCAL	REFEIÇÕES	ALIMENTOS/QUANTIDADES

INSTRUÇÕES PARA REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

As instruções abaixo irão auxiliar no procedimento do seu registro alimentar. Siga-as corretamente e releia-as sempre que tiver alguma dúvida.

1. Anote tudo o que você comer em três dias não consecutivos sendo dois dias da semana (exemplo: terça e quinta-feira) e um dia do final de semana (sábado ou domingo);
2. Quando você relatar um alimento ou bebida, seja o mais claro e preciso possível. Anote tudo no momento em que estiver comendo. Evite reconstruir as refeições de memórias, não deixe para anotar depois que tiver acabado de comer. Coloque a marca do produto se for o caso;
3. Registre todos os alimentos que ingerir durante o dia inteiro, até mesmo uma bala, chicletes, etc. exceto água;
4. Forneça o máximo de informações como, por exemplo, se na preparação foi utilizado molho (creme de leite, molho de tomate, molho branco, etc), se a carne é a milanesa, assada ou frita. Indique se os legumes e verduras são cozidos ou crus, servidos com margarina, manteiga, azeite, etc;
5. Informe com precisão, sempre que possível, o volume dos líquidos e peso de alimentos. Informe a colher utilizada nas medidas: café, chá, sobremesa, sopa, de servir, escumadeira e concha e se estas eram cheias ou rasas. Tente descrever bem as porções:
 - a. - 1 coxa média de frango, fruta com pele.
 - b. - 4 colheres de sopa de cenoura crua ralada.
6. Coloque o tamanho dos alimentos caso não saiba o peso (pequeno, médio, grande). Por exemplo: uma maçã pequena, uma pera grande, uma fatia média de abacaxi.
7. Informe o tipo de pão que você costuma comer (forma, francês, branco, integral, de leite etc). Anote tudo o que foi utilizado no pão (manteiga, margarina, geléia, requeijão, queijo, etc.).
8. Anote todos os ingredientes utilizados para adoçar alguma refeição como, por exemplo, açúcar ou adoçante no café.
9. Informe o tipo de leite que você costuma comer (integral, desnatado, semidesnatado, de soja, etc.).

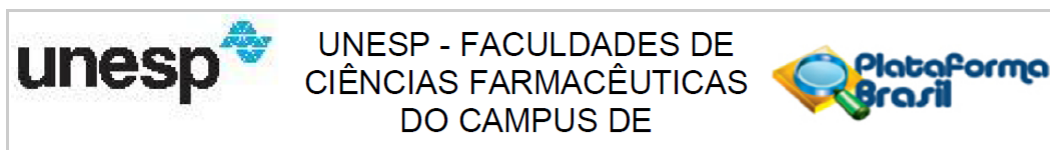
APÊNDICE D – Questionário de frequência alimentar

Produtos	Quantas vezes você come (de 0 a 10)	Unidade (Dia, Semana, Mês)	Porção Média (M)	Sua porção P M G GG
Leites e derivados				
Leite desnatado			½ copo de requeijão – 125 ml	
Leite semidesnatado			½ copo de requeijão – 125 ml	
Leite integral			½ copo de requeijão – 125 ml	
Iogurte Natural			1 unidade pequena – 140 g	
Iogurte com Frutas			1 unidade pequena – 140 g	
Queijo branco (minas/ frescal/ricota)			1 fatia média - 30 g	
Queijo amarelo (prato/mussarela/provolone/parmesão)			1,5 fatias grossas – 30 g	
Carnes e peixes				
Carne de boi (bife,cozida,assada), miúdos,vísceras.			1 bife médio ou 2 pedaços (100 g)	
Carne de porco (lombo,bisteca)			fatia média (100g)	
Carne seca, carne de sol, bacon			2 pedaços pequenos (40 g)	
Linguiça			1 gomo médio (60g)	
Frango (cozido, frito, grelhado, assado)			1 pedaço ou 1 filé pequeno (60g)	
Peixe (cozido,frito,assado), frutos do mar			1 filé peq ou 1 posta peq (100 g)	
Embutidos (salsicha, salame, presunto, mortadela)			2 fatias médias (30g)	
Hamburguer,nuggets, almondega			1 unidade média (60g)	
Molhos e temperos				
Azeite, óleo ou vinagre para tempero de salada			1 fio (5 ml)	
Maionese,molho para salada, patê e chantilly			1 colher de chá (0,35 g)	
Sal para tempero de salada e condimentos			1 pitada (0,35 g)	
Leguminosas e ovos				
Ovo (cozido,frito)			1 unidade (50g)	
Feijão (carioca,roxo,preto,verde)			1 concha média (86g)	
Lentilha,ervilha seca, grão de bico, soja			1 colher de servir (35g)	
Feijoadada, feijão tropeiro			1 concha média (210g)	

Frutas/Verduras/Legumes				
Alface			3 folhas médias (30g)	
Tomate			3 fatias médias (40g)	
Cenoura			1 colher de sopa (25)	
Outros legumes (abobrinha,berinjela,chuchu,pepino)			1 colher de sopa cheias (30g)	
Outras verduras cruas (acelga,rúcula,agrião)			1 prato de sobremesa (38g)	
Outras verduras cozidas (acelga,espinafre,escarola,couve)			1 colher de servir (30g)	
Brócolis			1 ramo ou 2 colheres de sopa (30g)	
Couve-flor,repolho			1 ramo ou 2 colheres de sopa (30g)	
Mexerica, abacaxi			1 unidade média ou 1 fatia grande (180g)	
Laranja			1 unidade média (180g)	
Limão (para tempero)			½ unidade (3 mL)	
Banana			1 unidade média (86g)	
Maçã, pera			1 unidade média (110g)	
Melão, melancia			1 fatia média (150g)	
Mamão			1 fatia média ou ½ unidade média (160g)	
Goiaba			1 unidade grande (225g)	
Abacate			2 colheres de sopa cheias (50 g)	
Arroz e Tubérculos				
Arroz branco ou integral cozido com óleo temperos			2 escumadeiras médias (120 g)	
Batata frita ou mandioca frita			2 colheres de servir cheias (100g)	
Batata,mandioca,inhamé (cozida ou assada), purê			1 escumadeira cheia (90g)	
Salada de maionese com legumes			3 colheres de sopa (90g)	
Farinha de mandioca, farofa,cuscuz,aveia,tapioca			3 colheres de sopa (40g)	
Pães e biscoitos				
Pão francês,pão de forma,integral,pão doce,torrada			1 unidade ou 2 fatias (50g)	
Biscoito sem recheio (doce, salgado)			4 unidades (24g)	
Biscoito recheado, wafer, amanteigado			3 unidades (41g)	

Bolo (simples, recheado)			1 fatia média (60g)	
Manteiga ou margarina passada no pão comum			3 pontas de faca (15g)	
Manteiga ou margarina passada no pão light			3 pontas de faca (15g)	
Sanduíche (cachorro quente, hambúrguer)			2 unidades simples (220g)	
Sopas e Massas				
Sopas (de legumes, canja, creme, etc)			1 concha média (150g)	
Salgados fritos (pastel, coxinha, rissoles, bolinho)			1 unidade grande (80g)	
Salgados assados (esfiha, bauruzinho, torta)			2 unidades ou 2 Pedacos médias (140g)	
Macarrão com molho, sem carne			1 prato raso (200g)	
Macarrão com molho com carne, lasanha, nhoque			1 escumadeira ou 1 pedaço pequeno (110g)	
Pizza, panqueca			2 fatias peq ou 2 unidades (180g)	
Polenta cozida ou frita			2 colheres de sopa ou 2 fatias pequenas (70g)	
Sobremesas e Doces				
Açúcar, mel, geleia			1/2 colher de sopa (6g)	
Chocolates, bombom, brigadeiro			1 barra pequena (25g)	
Achocolatado em pó (adicionado ao leite)			2 colheres de sopa (25g)	
Sobremesas, doces, tortas e pudins			1 pedaço ou 1 fatia média (60g)	
Bebidas				
Café ou chá com açúcar			2 xícaras de café (50 ml)	
Café ou chá sem açúcar			2 xícaras de café (50 ml)	
Suco natural com açúcar			1/2 copo americano (80ml)	
Suco natural sem açúcar			1/2 copo americano (80ml)	
Suco de laranja puro sem açúcar			1/2 copo americano (80ml)	
Suco artificial			1 copo de requeijão (240 ml)	
Refrigerante comum			1 copo de requeijão (240ml)	
Refrigerante diet/light			1 copo de requeijão (240ml)	
Cerveja			2 latas (700ml)	
Vinho			1 taça (150 mL)	

ANEXO A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DO EFEITO PREBIÓTICO DO SUCO DE LARANJA NA BIODISPONIBILIDADE DAS FLAVANONAS APÓS INGESTÃO CRÔNICA DE SUCO DE LARANJA

Pesquisador: Melaine Priscila Fidélis

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 53228116.9.0000.5426

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.644.906

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem redigido e as revisões solicitadas já foram executadas.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo está claramente apresentado e não há observações a serem adicionadas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Foram realizadas de acordo com a legislação vigente e as solicitações do Comitê de Ética em Pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é interessante e pode trazer benefícios para a comunidade caso os resultados estejam de acordo com o esperado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados e estão em conformidade com o que pede este Comitê.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovo, "ad referendum" do Comitê de Ética em Pesquisa, o projeto de pesquisa ora apresentado.

Endereço: Rodovia Araraquara Jaú, km 1

Bairro: Campus Universitário

CEP: 14.801-902

UF: SP **Município:** ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6897

E-mail: sta@fcar.unesp.br

ANEXO B – Parecer *ClinicalTrials*

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov PRS **DRAFT Receipt (Working Version)**
Last Update: 01/24/2017 10:06

ClinicalTrials.gov ID: NCT03032861

Study Identification

Unique Protocol ID: SaoPSU2

Brief Title: The Prebiotic Effect of Daily Intake of Orange Juice Affects the Bioavailability of Flavanones?

Official Title: Influence of the Prebiotic Effect of Orange Juice on the Bioavailability of Flavanones After Chronic Intake of Orange Juice.

Secondary IDs:

Study Status

Record Verification: January 2017

Overall Status: Active, not recruiting

Study Start: September 2016 []

Primary Completion: October 2016 [Actual]

Study Completion: February 2017 [Anticipated]

Sponsor/Collaborators

Sponsor: São Paulo State University

Responsible Party: Principal Investigator

Investigator: Thais Cesar [thaiscesar]

Official Title: PhD

Affiliation: São Paulo State University

Collaborators:

Oversight

U.S. FDA-regulated Drug:

U.S. FDA-regulated Device:

IND/IDE Protocol: No

Human Subjects Review: Board Status: Approved

Approval Number: 1.644.906

Board Name: Ethics Research Committee of Pharmacy School, UNESP

Board Affiliation: Sao Paulo State University

Phone: 55 16 33014657

Email: sta@fcfar.unesp.br

Data Monitoring: Yes